UNIVERSITÉ DE PARIS-SUD
FACULTÉ DE MÉDECINE DE PARIS-SUD

ANNÉE 1975 N° No 90

THESE

POUR LE DOCTORAT EN MÉDECINE
(DIPLÔME D'ETAT)

PAR

BERNARD, JEAN, YVES MESLET
NÉ LE 18 NOVEMBRE 1947 À NEUILLY-SUR-SEINE.

PRÉSENTÉE ET SOUTENUE PUBLIQUEMENT LE..... 1975.

ANEMIE HEMOLYTIQUE SECONDAIRE AU TRAITEMENT SUBSTITUTIF CHEZ LES HEMOPHILES A : À PROPOS DE HUIT OBSERVATIONS.

PRÉSIDENT : MONSIEUR DANIEL ALAGILLE, PROFESSEUR.

UNIVERSITÉ DE PARIS-SUD
FACULTÉ DE MÉDECINE DE PARIS-SUD

ANNÉE 1975 N°

THESE

POUR LE DOCTORAT EN MÉDECINE
(DIPLÔME D'ETAT)

PAR

BERNARD, JEAN, YVES MESLET
NÉ LE 18 NOVEMBRE 1947 À NEUILLY-SUR-SEINE.

PRÉSENTÉE ET SOUTENUE PUBLIQUEMENT LE..... 1975.

ANEMIE HEMOLYTIQUE SECONDAIRE AU TRAITEMENT SUBSTITUTIF CHEZ LES HEMOPHILES A : À PROPOS DE HUIT OBSERVATIONS.

PRÉSIDENT : MONSIEUR DANIEL ALAGILLE, PROFESSEUR.

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

A Martine, ma femme.

Qu'elle trouve ici le témoignage de mon amour et de mon dévouement.

A mes parents ;

qu'ils trouvent ici l'expression de mon admiration et de mon affectueuse reconnaissance.

A mes beaux-parents et leurs enfants,

qu'ils trouvent ici l'expression de mon affection.

A mes amis.

A Monsieur le Professeur Daniel ALAGILLE,

qui a bien voulu nous faire l'honneur de présider cette thèse.

A Madame le professeur agrégé LARRIEU,

qui a bien voulu guider notre travail.
Nous la remercions pour son aide, sa haute compétence et l'enseignement qu'elle a bien voulu nous dispenser.
En témoignage de notre admiration et de notre reconnaissance.

A Monsieur le Professeur Daniel ALADJIDI,

qui a bien voulu nous faire l'honneur
de présider cette thèse.

A Madame le professeur agrégé LAMRIBI,

qui a bien voulu guider notre travail.
Nous la remercions pour son aide, sa haute
compétence et l'enseignement qu'elle a bien
voulu nous dispenser.
En témoignage de notre admiration et de
notre reconnaissance.

A Monsieur le Professeur SOULIER,

qui a bien voulu s'intéresser à notre travail.

En témoignage de notre admiration et de notre reconnaissance.

A Monsieur le professeur agrégé TCHERNIA,

Madame le docteur DREYFUS,

Monsieur et Madame SUBTIL ;

Nos remerciements pour les conseils qu'ils nous ont prodigués.

Aux techniciennes du laboratoire d'hématologie de l'hôpital Antoine-Béclère,

dont le travail a été si précieux :

nos remerciements.

A Monsieur le docteur B. GROSS

A Madame le docteur E. GROSS

qu'ils trouvent ici l'expression de notre profonde reconnaissance pour l'aide qu'ils nous ont apportée.

Aux techniciennes du laboratoire d'hémobiologie de l'hôpital Antoine-Béclère, et notamment à Madame M. GARNIER-BOUDIER,

nos remerciements.

A Monsieur le professeur agrégé PILLOT,

Aux techniciennes du laboratoire d'immunologie de l'hôpital Antoine-Béclère, et notamment à Madame M. T. RANNOUI :

nos remerciements.

Aux chefs de service qui ont soigné ces patients :
Messieurs les professeurs agrégés COURTECUISSE, DORMONT, LARRIEU et MAZAS.

Nos remerciements.

Nous exprimons ici tous nos remerciements aux membres du Centre National de Transfusion Sanguine et du Centre de Transfusion Sanguine de Versailles, pour les conseils qu'ils nous ont fournis.

I N T R O D U C T I O N

Le traitement substitutif de l'hémophilie A fait désormais appel à des fractions enrichies en facteur VIII (facteur anti-hémophilique A). Les fractions les plus couramment utilisées sont obtenues par cryoprécipitation de plasma provenant de plusieurs donneurs. Ce procédé simple autorise la préparation de grandes quantités d'un matériel efficace en thérapeutique, mais le contenu en agglutinines anti-A ou anti-B est de ce fait variable d'une préparation à l'autre.

Les indications du traitement substitutif dans l'hémophilie A n'ont pas cessé de s'élargir au cours de ces dernières années. L'utilisation de fractions concentrées autorise désormais la chirurgie chez l'hémophile, et en particulier la chirurgie orthopédique.

Outre les risques transfusionnels classiques (hépatite virale, apparition d'un anticoagulant anti-facteur VIII) qui peuvent être liés à une seule injection, un apport massif de cryoprécipités peut provoquer une anémie hémolytique en raison de la présence d'agglutinines anti-A et anti-B.

De 1972 à 1974, nous avons observé huit accidents de ce type chez des hémophiles de groupe sanguin A.

Il nous a paru intéressant d'analyser l'aspect clinique et biologique de ces anémies hémolytiques, compte tenu des importants problèmes diagnostiques posés, et d'étudier le mécanisme de ces accidents, afin de proposer leur traitement et leur prévention future.

...

MATERIEL ET METHODES

I - MATERIEL

1° Les malades

L'étude porte sur 8 sujets atteints d'hémophilie A sévère, et de groupe sanguin A, hospitalisés à l'hôpital Antoine-Béclère pendant deux années consécutives.

Observation n°	Age (années)	Type de l'hémophilie	Facteur VIII %	Groupe & Rhésus
1	19	A	< 1	A négatif
2	30	A	< 1	A positif
3	17	A	< 1	A positif
4	16	A	< 1	A positif
5	15	A	< 1	A1 positif
6	17	A	< 1	A positif
7	19	A	< 1	A1 positif
8	25	A	< 1	A positif

2° Les témoins

Le groupe témoin est constitué de deux hémophiles A de groupe sanguin O.

Témoin n°	Age (années)	Type de l'hémophilie	Facteur VIII %	Groupe & Rhésus
1	53	A	8	O positif
2	22	A	< 1	O positif

3° Les transfusions sanguines ont été réalisées par :

Flacons de sang total isogroupe ou de groupe O, sang lavé, culots globulaires isogroupes ou de groupe O préparés et contrôlés par la banque du sang de l'hôpital Antoine-Béclère, le C. D. T. S. et le C. N. T. S.

4° Traitements substitutifs employés :

Tous les malades ont reçu du facteur anti-hémophilique A soit sous forme de cryoprécipités lyophilisés préparés par le Centre National de Transfusion Sanguine, soit sous forme de cryoprécipités isogroupes congelés, préparés par le centre de Transfusion de Versailles.

- *ABREVIATIONS UTILISEES :*

F. A. H. A. : facteur anti-hémophilique A ;
C. P. L. : cryoprécipités lyophilisés fournis par le C. N. T. S.
C. P. I. : cryoprécipités isogroupes congelés fournis par le C. D. T. S. de Versailles.

a) Préparation des cryoconcentrés du C. N. T. S.

Le sang a été collecté le matin ou la veille, sur flacons en verre renfermant 40 ml d'A.C.D. pour environ 400 ml de sang. Quel que soit leur groupe sanguin, environ 800 flacons de sang passent dans une électro-écrémeuse qui sépare le plasma des éléments figurés. Le plasma ainsi recueilli, est "poolé" en flacons de 1 000 ml remplis aux 4/5 : chaque flacon contenant 800 ml de plasma "poolé" est soumis à un contrôle bactériologique et à une recherche d'antigène Australie (méthode radio-immunologique). Ces flacons de plasma sont alors congelés en rotation continue à - 50°C sous jet d'alcool refroidi au Fréon. La congélation en coquille s'effectue en 40 minutes, et ces flacons sont conservés à - 25°C en attendant le résultat des examens.

Quatre fois par semaine, 150 litres de plasma "poolé", soit environ 180 flacons de 800 ml chacun, quittent la division plasma pour celle du fractionnement. Ces 150 litres subissent alors une décongélation lente de 24-48 heures à + 4°C, qui fait apparaître le cryoprécipité, puis une centrifugation à + 4°C selon la technique de Pool et Shannon (11). On obtient ainsi un cryoprécipité qui, en fonction de son poids, est dissout dans un volume de citrate trisodique 0,055 M à pH 6,8 calculé sur une courbe étalon (à titre d'exemple, 150 litres de plasma congelé fournissent

...

par cette méthode entre 1 500 et 2 000 g de cryoprécipité dissout dans environ 15 litres de tampon).

Après dissolution, le mélange est soumis à une centrifugation douce pour éliminer les impuretés, puis filtré 4 fois sur membrane Millipore : préfiltration, filtration clarifiante (pore de 1,2 µ de diamètre), 3ème filtration (diamètre : 0,8 µ), puis filtration stérilisante (diamètre : 0,45 µ). Le produit de filtration est conditionné en flacons de 250 ml par quantité unitaire de 100 ml.

Le mélange obtenu après dissolution porte le numéro du lot. Le conditionnement unitaire fournit, à partir de ce lot, entre 100 et 150 flacons. Après filtration, des échantillons sont recueillis pour dosage du facteur VIII. L'ensemble des flacons de ce lot est à nouveau congelé à - 50°C en chambre froide sous jet d'alcool, puis mis à - 25°C et lyophilisé en 20 à 30 heures, suivant l'épaisseur du produit.

La recherche d'agglutinines irrégulières était d'abord pratiquée sur l'ensemble des flacons destinés au fractionnement. Les résultats obtenus sur une grande série ont permis d'éliminer cette recherche tant la fréquence des anticorps retrouvés était faible.

Un flacon reconstitué dans 100 ml d'eau distillée contient l'équivalent de 300 à 500 ml de plasma frais, soit 300 à 500 unités de facteur anti-hémophilique A. (Une unité correspond à la quantité de facteur VIII présente dans un ml de plasma normal).

b) Préparation des cryoprécipités isogroupes (A) par le C. D. T. S. de Versailles :

Le sang prélevé sur ACD (40 ml pour 350 ml de sang) en poche triple, est soumis à une agitation continue. Le transport du sang frais s'effectue si possible en boite isotherme à + 4°C jusqu'au Centre, dans un délai inférieur à 2 heures. Le sang subit alors une centrifugation à + 4°C pendant 20 mn et à 900 g. Le plasma pauvre en plaquettes est séparé du culot globulaire et placé pendant 2 à 3 heures dans un congélateur à - 80°C. Il est ensuite décongelé progressivement dans une chambre froide à + 4°C pendant 12 à 18 heures. Sa centrifugation à 1 500 g pendant 20 mn à + 4°C permet la séparation du cryoprécipité adhérent au fond du sac et du plasma surnageant. Le simple retournement du sac fait passer le plasma surnageant dans le 3ème sac. On garde en règle quelques ml de ce plasma avec le cryoprécipité pour mieux permettre la dissolution de ce dernier par pétrissage doux.

Six cryoprécipités sont ensuite mélangés dans un sac unique grâce à un collecteur à 6 voies (Medicoplast). Le pool de 6 cryoprécipités (dont un échantillon est réservé au dosage du facteur VIII) est alors stocké à - 80°C. Le dosage du facteur VIII est effectué sur le pool et sur le plasme de départ (calcul de rendement) par la méthode en un temps de Soulier et Larrieu (1), en présence de kaolin.

II - METHODES

1° Hémostase :

- Le sang est prélevé par ponction veineuse franche et recueilli en tubes plastiques citratés (1 vol. de citrate de sodium à 3,8 % pour 9 vol. de sang). Le plasma pauvre en plaquettes est obtenu par centrifugation à 4 000 g pendant 20 minutes.

- Le dosage du facteur antihémophilique A est effectué selon la méthode en un temps (1), en utilisant comme substrat un plasma d'hémophile A sévère. La référence 100 % est constituée par un plasma lyophilisé standard (Hyland).

- Le dosage du fibrinogène est réalisé selon la méthode pondérale de Grahm (1).

2° Cytologie

- Le prélèvement veineux est recueilli en tube plastique sur sequestrene (Biotrol).

- La numération des hématies et leucocytes (nombre d'éléments par mm^3), l'hématocrite (en pourcentage de sang total) et le taux d'hémoglobine (g pour 100 ml de sang total) sont fournis automatiquement après passage du sang sur appareil Coulter Counter S (Coultronic France).

- Les réticulocytes sont comptés au microscope sur 1 000 hématies d'un frottis de sang, après coloration vitale par le bleu de Unna. Les résultats sont exprimés en nombre absolu de réticulocytes par mm^3 de sang.

3° Autres méthodes

a) Examens immuno-hématologiques (9) effectués par le laboratoire d'hémobiologie de l'hôpital Antoine-Béclère.

- Les groupes sanguins : après prélèvement sur tube sec, ils sont déterminés sur plaque d'opaline par les deux techniques habituelles :

...

épreuve globulaire de Beth-Vincent avec sérums tests anti-A, anti-B, anti-A + B (C. N. T. S.) ; épreuve sérique de Simonin avec hématies A1 et B lavées trois fois en sérum physiologique et remises en suspension saline à 5 %.

- Test de Coombs direct :

Prélèvement du sang veineux sur tube citraté (citrate de sodium à 3,8 %). Les hématies sont lavée six fois en sérum physiologique et remises en suspension saline à 5 %. Détermination, sur plaque ou en tube par centrifugation de l'agglutination des hématies lavées du sujet vis-à-vis des antiglobulines suivantes :

. polyvalentes (C. N. T. S., Pasteur, Lille)

. et spécifiques (anti-IgG, anti-IgM, anti-complément).

- Recherche des agglutinines irrégulières par trois techniques différentes :

. test de Coombs indirect avec hématies trypsinées ;

. hématies bromélinées ;

. hématies en sérum AB.

- Elution des anti-A par la chaleur à + 56°C : en plus de la technique classique, l'éluat est testé par Coombs indirect trypsiné.

- Titrage des anti-A et anti-B naturels et immuns : dilutions en série du sérum qui est confronté à des hématies A1 et B lavées six fois en saline, puis lecture après brève centrifugation. Les agglutinines naturelles sont recherchées directement alors que les immunes sont recherchées après incubation de 30 mn, volume à volume avec la substance de Witebski.

b) Techniques immunohématologiques employées par le C. N. T. S. pour l'étude des C. P. C. :

- Recherche d'hémolysines :

. deux gouttes de cryoprécipité reconstitué ;

. deux gouttes de complément humain AB ;

. une goutte de globules A et B en suspension saline à 20 %, 40 mn, à 37°C et lecture.

- Titrage des anticorps agglutinants :

. double dilution en saline sous un volume de deux gouttes du cryoprécipité reconstitué ;

.globules A et B en suspension saline à 5 % ;

. sédimentation pendant 1 h 30 à 22°C et lecture.

...

- Titrage des anticorps incomplets :

. double dilution en saline sous un volume de 2 gouttes du cryoprécipité reconstitué ;

. globules A et B en suspension saline à 5 % ;

. réaction de Coombs indirect avec une antiglobuline polyvalente sur les dilutions non agglutinées après lavage.

c) Dosage de la bilirubine

- Prélèvement de sang sur tube sec et extraction du sérum par décantation et centrifugation.

- Dosage par diazo-réaction selon la méthode de Jendrassik modifiée par Gambino (6).

d) Analyse immuno-chimique des C. P. L. (Professeur Pillot).

L'étude a porté sur trois C.P.L. du C. N. T. S. :

- lot 408 flacon 35
- lot 401 flacon 44
- lot 452 flacon 13.

Les préparations sont défibrinées par chauffage à 56°C pendant 10 mn et filtrées sur Gel de Sephadex G 200 en tampon phosphate 0,01 M NaCl : 0,14 M à pH 7,2. Les fractions sont collectées, et les différents pics caractérisés :

- par immunoélectrophorèse avec un sérum anti-humain total (Hyland) selon la technique de Grabar ;

- par immunodiffusion double contre un sérum anti-humain total (Hyland) et sérum anti-chaines lourdes α, γ et μ (Behring).

Le dosage spécifique de chaque immunoglobuline est fait sur plaques (Behring) selon la technique de Mancini(8).

OBSERVATIONS

Huit malades atteints d'hémophilie A sévère et appartenant au groupe sanguin A ont développé sous traitement substitutif par C.P.L. des épisodes d'anémie hémolytique.

Deux malades, également hémophiles A mais de groupe sanguin 0, soumis à une substitution identique, servent de groupe témoin.

Observation n° 1 : RE... Christian (tableau I)

Ce jeune patient âgé de 19 ans, hémophile A sévère, présente comme principaux antécédents :

- Une première hospitalisation à Saint-Vincent-de-Paul en juillet-août 1962, est justifiée par un syndrome douloureux rachidien, consécutif à une chute. Agé de 9 ans, l'enfant pèse alors 25 kg et est substitué par du plasma antihémophilique. Ce traitement dure 8 jours, amenant un total de 5 950 u. de F. A. H. A. La numération à l'entrée étant normale (4 800 000 hématies/mm^3), il apparaît au quatrième jour d'hospitalisation et à 3 550 u. de F. A. H. A reçues, une anémie aiguë (1 500 000 hématies/mm^3), évoquant une urgence chirurgicale. En fait, il s'agissait d'une anémie hémolytique avec subictère, splénomégalie, hyperbilirubinémie à 38 mg/l, hyper-réticulocytose à plus de 600 000/mm^3, urobilinurie, mais le test de Coombs direct était négatif. Cette anémie n'a pas été réparée par la transfusion de sang isogroupe effectuée pendant la poursuite du traitement substitutif. Le chiffre de globules rouges est revenu à la normale au 20ème jour d'hospitalisation, alors que le patient n'était plus substitué depuis 8 jours et qu'il avait reçu deux transfusions de globules rouges lavés.

- Le deuxième épisode hémolytique a lieu six ans plus tard, alors qu'il est hospitalisé pour hématome du psoas droit. Il est traité pendant 4 jours par F. Ia (au total 1 800 u. de F. A. H. A) et c'est le

TABLEAU I

Observation n° 1 - RE... Christian

	Premier épisode	Deuxième épisode
Motif de l'hospitalisation	Syndrome douloureux rachidien	hématome du psoas
Date Hb est à sa valeur minima	J 4	J 7
Quantité de C.P.L. reçue (u. de F.A.H. A)	3 350	12 800
Hb minimum (g/100 ml) ou G. R./mm^3	1,5 . 10^6/mm^3	10
Pic de réticulocytes (par mm^3)	660 000	730 000
Bilirubine (mg/l) Totale	38	30
Indirecte		10
Coombs direct	négatif	positif
Elution d'un anti-A		
Divers	Subictère, splénomégalie urobilinurie	

dernier jour du traitement qu'apparaissent : un subictère et une discrète splénomégalie, avec chute importante de l'hématocrite à 19 % et élévation discrète de la bilirubine ainsi qu'une réticulocytose importante. Ces signes regresseront après arrêt de la substitution et une transfusion de globules rouges lavés. Le bilan entrepris alors a éliminé les causes d'anémie hémolytique corpusculaire.

- En mars 1971, il est hospitalisé pour hémarthrose du genou gauche. Le traitement associe une corticothérapie (posologie non connue) et une substitution par C.P.L. le premier jour (800 u. de F.A.H.A) puis par deux cryoprécipités quotidiens pendant 12 jours (la nature des C.P. n'est pas connue). Sous ce traitement, on ne note pas de diminution du chiffre d'hémoglobine, ni de la numération des réticulocytes. Un Coombs direct est négatif.

- Le dernier épisode débute en août 1972 par un hématome du psoas gauche, pour lequel il est hospitalisé à Chambéry. On ne possède pas de détails sur les modalités du traitement substitutif entrepris. Le retour au domicile en voiture provoque la récidive de l'hématome, avec aggravation du psoitis résiduel qui fait hospitaliser le patient le 14 septembre 1972 à Antoine-Béclère. Il est traité par 6 C.P.L. par 24 heures pendant 7 jours. L'hémostase est correcte, mais on note l'apparition d'une anémie s'aggravant progressivement pendant 7 jours. C'est une anémie hémolytique avec subictère conjonctival, hyperréticulocytose, élévation franche de la bilirubine indirecte et Coombs direct positif.

Le patient a reçu à cette date 12 000 u. de F.A.H. A (figure n° 1 et tableau I). Le traitement substitutif est arrêté au 8ème jour. La persistance d'un chiffre d'hémoglobine faible fait prescrire au 16ème jour deux flacons de globules rouges isogroupes lavés. Cette double transfusion répare définitivement l'anémie. Le traitement a été suffisant pour faire disparaître l'hématome sans récidive, autorisant la sortie du malade le 11 octobre 1972.

Observation n° 2 : CA... Jean-Pierre (tableau II)

Il s'agit d'un hémophile A sévère, âgé de 30 ans, dont l'affection fut découverte à 2 ans à l'occasion d'une chute sur le front.

...

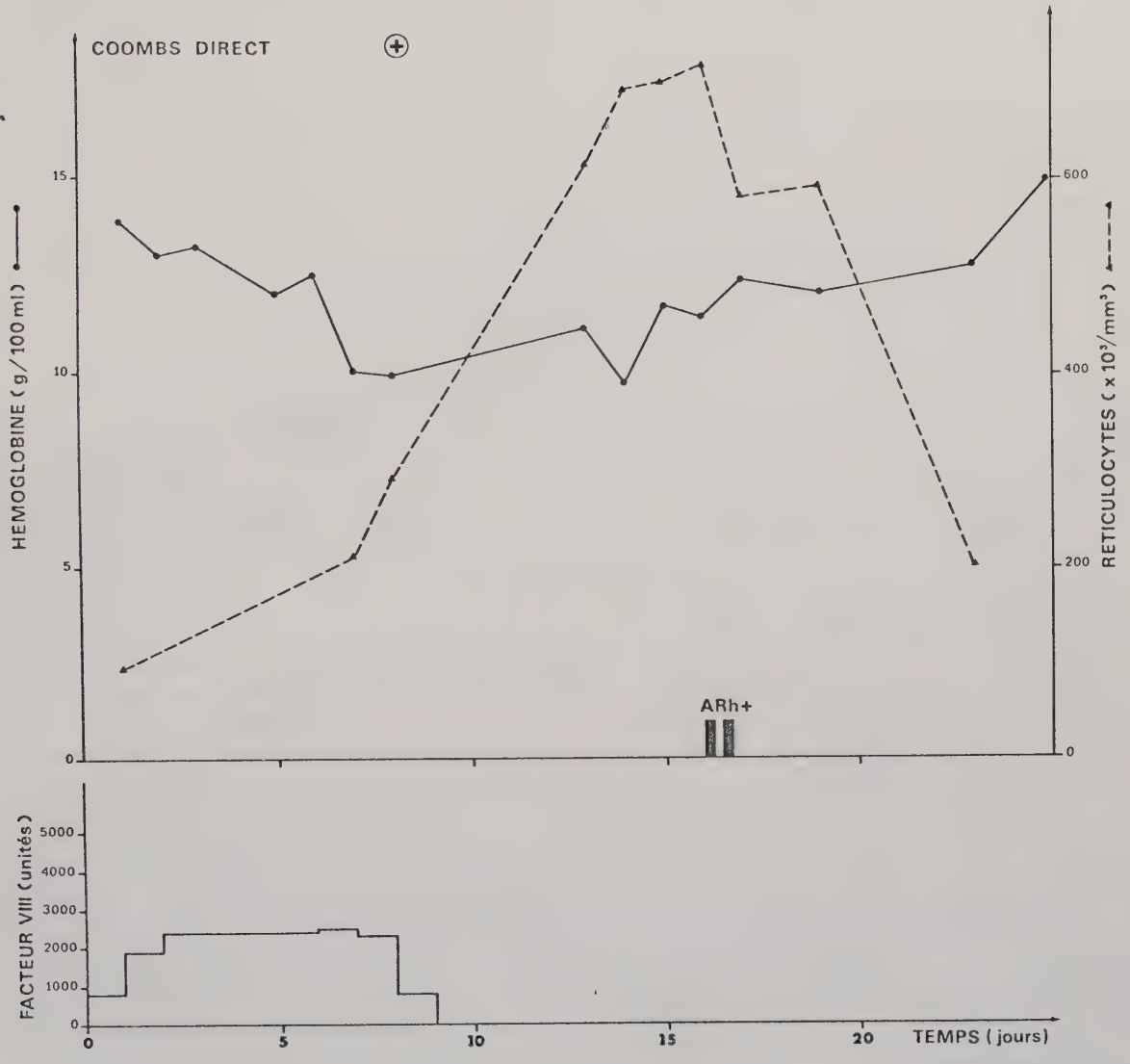

Figure 1 - Observation n° 1. RE... Christian.

TABLEAU II

Observation n° 2 - CA... Jean-Pierre

Motif de l'hospitalisation	Arthroplastie à cupule
Date Hb minimum	J 8
Quantité de C.P.L. reçue (u. F.A.F. A)	21 800
Hb minimum (g/100 ml)	10,8
Pic de réticulocytes (par mm^3)	460 000
Bilirubine (mg/l)	
totale	19
indirecte	16
Coombs direct	Négatif
Elution d'un anti-A	-

Parmi les antécédents, il faut surtout retenir la répétition des hémarthroses de la hanche gauche qui entraîne des immobilisations fréquentes et prolongées. L'apparition de douleurs à ce niveau, mal calmées par les antalgiques et qui rendent la marche de plus en plus difficile, amène ce patient en consultation d'orthopédie, en janvier 1973. Le bilan pratiqué montrait alors :

. une marche difficile, avec boiterie, limitée à un quart d'heure par l'apparition de douleurs au niveau de la hanche gauche ;

. l'examen radiologique : à droite, une arthropathie hémophilique et à gauche un début de nécrose de la tête fémorale.

- Le malade est hospitalisé et l'intervention correctrice (arthroplastie à cupule) est effectuée le 9 janvier 1973, sous couvert d'un traitement substitutif.

. de J1 à J8, la substitution effectuée par 6 C.P.L. quotidiens ne permet pas d'obtenir un taux satisfaisant de facteur VIII.

. C'est pour cela que de J9 à J21, ce traitement est renforcé par l'addition d'un C.P.I. quotidien.

A J 8 apparaît une chute du chiffre d'hémoglobine, alors que le patient a reçu un total de 21 870 u. de F.A.H. A (ce même jour, formation d'un hématome inguinal gauche à la suite d'une rééducation trop précoce). L'anémie persiste ensuite, malgré les transfusions de deux sangs totaux A Rh positif (J 10 et de 2 culots A Rh négatif (J 15). Au contraire, la transfusion d'un culot A Rh positif (J 17) sera suivie le lendemain d'une aggravation de l'anémie (figure n° 2). Cette baisse brutale du chiffre d'hémoglobine fut réparée à J 18 par la transfusion de 4 culots globulaires 0. L'anémie paraît bien être en rapport avec un accident hémolytique, comme en témoignent les arguments suivants :

. hyperréticulocytose ;

. élévation franche de la bilirubine indirecte ;

. cependant, le Coombs direct est resté négatif.

- De J 21 à J 27, le traitement ne comporte plus que des C.P.L. Il n'est pas apparu de récidive anémique pendant cette période (figure n° 2).

Le malade sort à J 30.

...

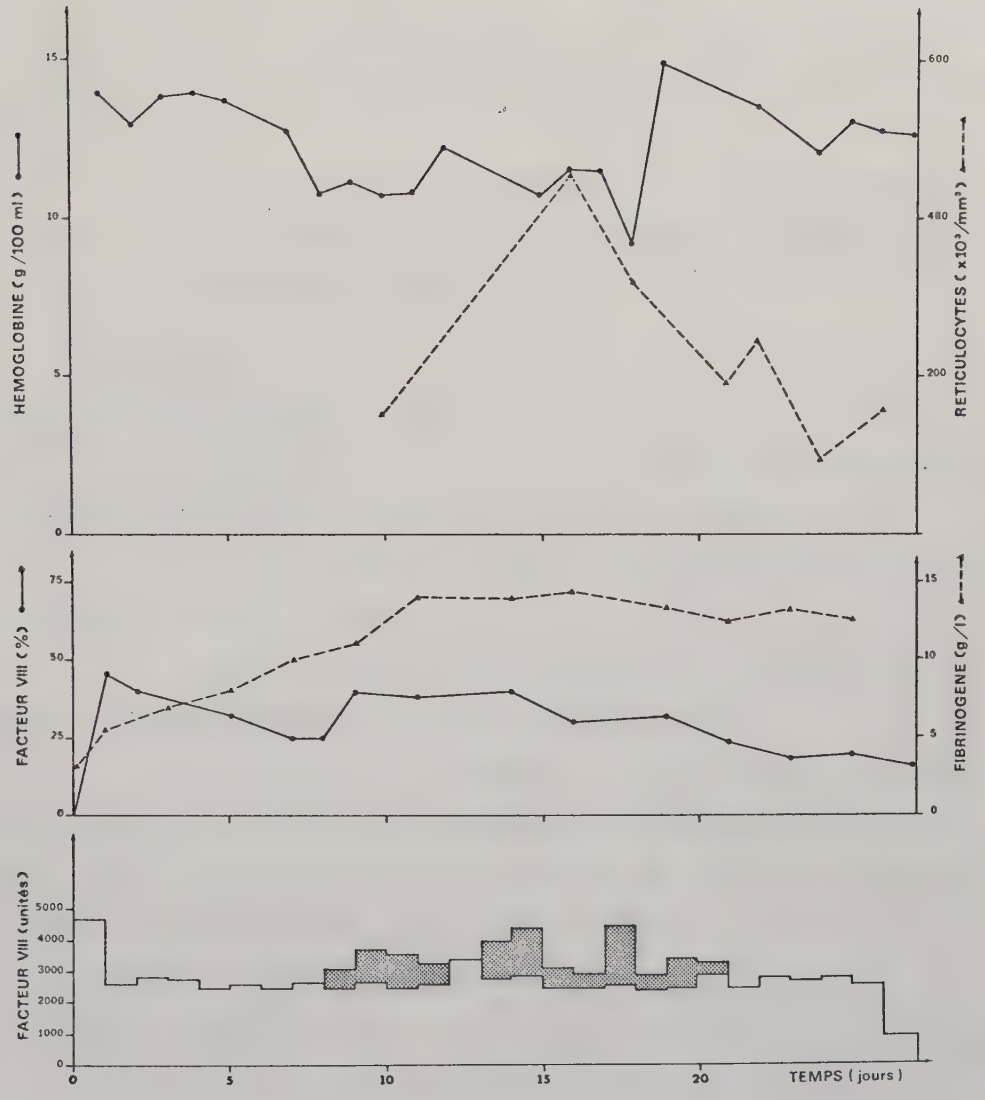

Figure 2 - Observation n° 2. CA... Jean-Pierre.

Observation n° 3 : ME... Jean-François (tableau III)

C'est un hémophile A sévère, âgé de 17 ans, dont les accidents hémorragiques ont été nombreux, et pour lesquels les seuls traitements furent des transfusions de sang frais paternel et des immobilisations prolongées.

A l'âge de 13 ans, un hématome du mollet gauche et une hémarthrose du genou gauche l'immobilisent pendant longtemps. Il s'ensuit un blocage des deux genoux rendant la marche impossible sans l'aide de cannes anglaises.

En décembre 1972, un bilan clinique et radiologique montre des limitations articulaires importantes, notamment au niveau :

- de la hanche droite : coxa plana avec mauvaise couverture de la tête, due à une hémarthrose ancienne et méconnue ;
- des deux genoux : flexum irréductible avec luxation externe permanente de la rotule gauche ;
- des chevilles : arthropathie avec équin bilatéral, qui rendent ce jeune hémophile pratiquement grabataire.

C'est pourquoi ce patient est hospitalisé à Antoine-Béclère pour intervention de correction des flexum le 10 janvier 1973. Du côté droit, la réduction a été réalisée par plâtre et gypsotomie. Du côté gauche, l'intervention a lieu le 16 janvier, sous couverture de C.P.L. La substitution est effectuée par C.P.L. (6 par jour) de J 8 à J 50. Elle sera renforcée par l'adjonction de cryoprécipités isogroupes (C.P.I.) de J 8 à J 51. La déglobulisation est progressive, la chute apparaît à J 11 alors que le malade a reçu un total de 26 700 u. de F.A.H. A. Cette anémie s'accompagne d'une hyper-réticulocytose et d'une élévation nette de la bilirubine totale (figure n° 3, tableau III).

Les seules transfusions de culots A Rh positif seront suffisantes pour réparer temporairement cette anémie. En effet, un tableau d'hémolyse chronique s'installe de J 17 à J 24. La persistance de l'anémie à cette date fait transfuser deux culots 0 Rh positif, qui ne sont efficaces qu'après un temps de latence. Ce fond d'anémie hémolytique chronique est marqué d'un épisode aigu à J 35. Le Coombs direct est alors négatif. La transfusion de 3 sangs A Rh positif n'est efficace que temporairement. La réapparition de l'anémie oblige à la transfusion

...

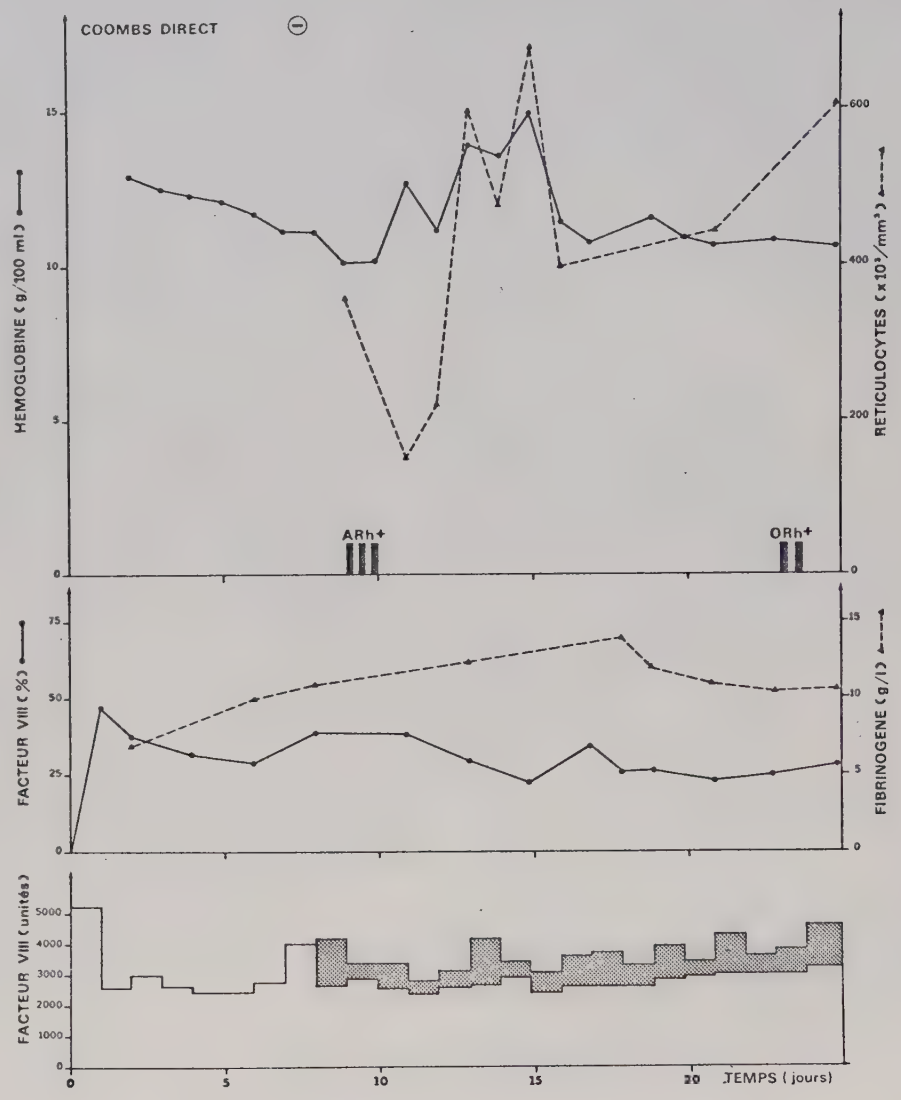

Figure 3 - Observation n° 3. ME... Jean-François.

TABLEAU III

Observation n° 3 - ME... Jean-François

Motif de l'hospitalisation	Synovectomie
Date Hb minimum	J 11
Quantité de C.P.L. reçue (u. de F.A.H. A)	26 500
Hb minimum (g/100 ml)	10,1
Pic de réticulocytes (par mm^3)	700 000
Bilirubine (mg/l)	
totale	15
indirecte	3
Coombs direct	négatif
Elution d'un anti-A	-

de culots O Rh positif à J 46 et J 47.

A J 55, on découvre un anticoagulant circulant anti-facteur VIII.

Du 21 mars au 2 avril, Jean-François est remis sous fractions à fortes doses (10 C.P.L. par jour) pour l'évacuation chirurgicale d'un hématome de cuisse. Ce nouveau traitement fait apparaître à J 5 une récidive de l'anémie avec hyper-réticulocytose évoquant un mécanisme hémolytique malgré la négativité des deux Coombs directs pratiqués.

Le malade sort fin avril : son genou droit est stable, son genou gauche est appareillé en rectitude avec un matériel plastique, et la rééducation entreprise. Ce traitement orthopédique a transformé ce jeune patient puisqu'au bout d'un an, la marche sans cannes est possible, et les genoux sont stables, indolores avec amélioration de leur flexion.

Observation n° 4 : CE... Christian (Tableaux IV et V).

Cet hémophile A sévère, âgé de 16 ans, est victime le 1er avril 1973 d'un accident de la voie publique, lui provoquant une fracture comminutive de la diaphyse fémorale gauche.

Il reçoit 3 C.P.L. et est dirigé sur Antoine-Béclère, où l'on réduit la fracture sous couvert de C.P.L., puis on l'immobilise par plâtre pelvi-pédieux. La substitution effectuée de J 1 à J 11 par C.P.L. à raison de 10 par jour, en perfusion continue, assure une hémostase correcte.

L'anémie s'installe rapidement, elle est maximale à J 6 alors que le jeune Christian a reçu un total de 16 200 u. de F.A.H.A. La transfusion de 3 culots globulaires A Rh positif à J 7, alors que la substitution n'est pas modifiée, restera inefficace puisque le chiffre d'hémoglobine ne subira qu'une élévation temporaire avant de rechuter en moins de 48 heures. Il s'agit d'une anémie de type hémolytique, avec :

- hyper-réticulocytose ;
- élévation franche de la bilirubine totale,

même si les 2 Coombs directs sont restés paradoxalement négatifs (tableaux IV et V).

...

TABLEAU IV

Observation n° 4 - CE... Christian

Motif de l'hospitalisation	Fracture du fémur
Date Hb minimum	J 6
Quantité de C.P.L. reçue (u. F.A.H. A)	16 200
Hb minimum (g/100 ml)	6,6
Pic de réticulocytes (par mm^3)	375 000
Bilirubine (mg/l) totale	16
Coombs direct	négatif
Elution d'un anti-A	-
Divers	Erythroblastose sanguine

TABLEAU V

Observation n° 4 - CE... Christian

Evolution des paramètres biologiques sous traitement substitutif (10 C.P.L. par 24 heures)

Jour	Hémoglobine (g/100 ml)	Réticulocytes /mm³	Bilirubine totale mg/l	Test de Coombs direct	Facteur VIII %	Fibrinogène g/l	Transfusions (C. G.)
4	8,6				45	9,8	
5	8,6						
6	6,8	120 000					
7	11,8						3 A Rh +
9	11,1	325 000	17	négatif	35	12,4	
10	8	145 000					
11	8,9			négatif			
12	7,5	225 000					2 O Rh +
13	10,3	370 000	22		32	13,9	2 O Rh +
14	5,5						

La persistance de l'anémie fait transfuser 2 culots globulaires O Rh positif à J 12 et J 13.

A J 13, dans un contexte infectieux fébrile, la numération révélait 7 % d'érythroblastes dans le sang périphérique et une hyperneutrophilie.

Ce patient succombait à un choc cardiogénique induit par une septicémie à Klebsielles (J 14).

Observation n° 5 : RI... Michel (tableau VI)

Ce jeune hémophile A sévère, âgé de 15 ans, a présenté de nombreux accidents articulaires, et notamment des hémarthroses du coude et du genou gauche. La répétition des accidents hémorragiques sur cette dernière articulation fit entreprendre, outre une corticothérapie à répétition, une synoviorthèse en novembre 1972, et une protection prophylactique par C.P.L. à raison d'un tous les 3 jours, depuis février 1973.

Le 10 avril 1973, une chute de sa hauteur sur son côté gauche, provoque une fracture du tiers inférieur du fémur gauche. Il reçoit aussitôt 2 cryoprécipités isogroupes et est dirigé sur l'hôpital Antoine-Béclère.

Dès son arrivée, le membre blessé est placé en traction extension par broches, sous couvert d'un traitement substitutif.

- Pendant les 6 premiers jours, celui-ci comporte exclusivement 10 C.P.L. par jour, assurant une hémostase correcte, mais une chute progressive, mais nette, du chiffre d'hémoglobine. L'anémie est maximale à J 7, il s'agit d'une anémie de type hémolytique avec (figure 4) :

- hyper-réticulocytose ;
- élévation notable de la bilirubine indirecte ;
- Coombs direct positif avec élution par la chaleur d'un anticorps anti-A.

Cette anémie apparaît après transfusion de 24 300 u. de F.A.H. A. La survenue de cet épisode modifie la thérapeutique :

- transfusion de 2 culots globulaires O Rh positif à J 7 et J 8, permettant de remonter le chiffre d'hémoglobine ;

...

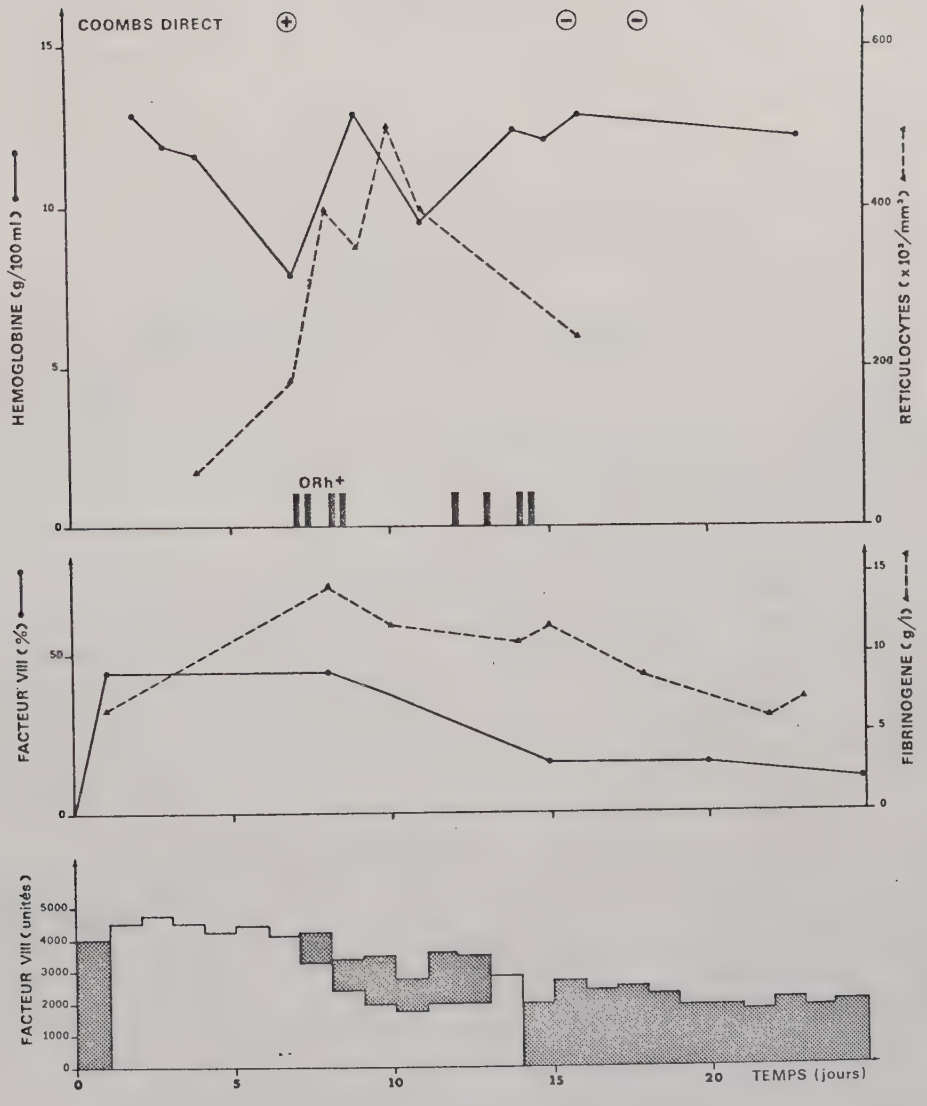

Figure 4 - Observation n° 5. RI... Michel.

TABLEAU VI

Observation n° 5 - RI... Michel

Motif de l'hospitalisation	Fracture du fémur
Date Hb minimum	J 7
Quantité de C.P.L. reçue (u. F.A.H. A)	24 300
Hb minimum (g/100 ml)	8
Pic de réticulocytes (par mm^3)	490 000
Bilirubine (mg/l)	
totale	12
indirecte	12
Coombs direct	positif
Elution d'un anti-A	positive

- substitution effectuée de J 8 à J 14 par C.P.L. plus 2 C.P.I. quotidiens qui assure toujours une hémostase correcte (figure n° 4).

Ces transfusions et cette substitution mixte n'empêcheront pas la réapparition de l'anémie, maximale à J 11 avec persistance d'une réticulocytose et d'une bilirubine indirecte toutes deux élevées. C'est pourquoi on décide :

- une nouvelle transfusion de 2 culots globulaires O Rh positif à J 13 et J 14, qui répare l'anémie ;

- le remplacement de la substitution mixte par des cryoprécipités isogroupes.

Pendant ce traitement par ces seuls cryoprécipités (J 15 à J 35), on assistera :

- à l'absence de rechute anémique ;

- à la normalisation des chiffres de réticulocytose et de bilirubine indirecte ;

- à la négativation des Coombs directs.

Ainsi, chaque épisode anémique fit modifier le traitement : passage d'une substitution exclusive par C.P.L. à une substitution mixte, puis remplacement de celle-ci par un traitement effectué exclusivement grâce aux C.P.I.

A J 33, devant le bon état du foyer de fracture, on enlève la broche et on fait un plâtre. Il sort à J 35. Le plâtre est retiré 6 semaines après sa pose, et la rééducation est entreprise.

Observation n° 6 : CA... Bruno (Tableau VII).

Ce jeune hémophile A sévère, âgé de 17 ans, issu d'une famille d'hémophiles, présente les antécédents suivants :

- En 1963, il est hospitalisé pour un syndrome abdominal fébrile. Il s'agissait en fait d'un hématome rétro- ou intra-péritonéal, dont la symptomatologie s'est effacée en quelques jours, sous l'action de transfusions sanguines et de fractions Ia.

Il faut remarquer que sous ce double traitement, le chiffre d'hémoglobine, bas à l'arrivée (9,5 g/100 ml) est passé en 3 jours à 12 g/100 ml.

...

TABLEAU VII

Observation n° 6 - CA... Bruno

	Septembre 1973	Octobre 1973
Motif de l'hospitalisation	Hématome latéro-thoracique	Récidive de l'hématome
Date Hb minimum	J 5	J 3
Quantité de C.P.L. recue (u. F.A.H. A)	12 300	4 200
Hb minimum (g/100 ml)	6,5	9,7
Pic de réticulocytes par mm^3	485 000	260 000
Bilirubine (mg/l)		
totale	13	12
indirecte	13	12
Coombs direct	positif	négatif
Elution d'un anti-A	positive	

- En 1964, il ne montrera à son médecin traitant que plusieurs semaines après son apparition, une hémarthrose du genou droit : l'amyotrophie consécutive nécessitera une rééducation de plusieurs semaines.

- En 1972, un effort important provoque l'apparition d'un hématome du psoas, avec boiterie et douleur de la fosse iliaque gauche. Des repos de courte durée alternent avec des travaux de force et, la tuméfaction persistant, Bruno ne consulte qu'au bout d'un mois. Cet hématome du psoas gauche sera traité par un total de 6 C.P.L. sans modification de l'hémogramme.

- En février 1973, à la suite d'un effort, il apparaît un volumineux hématome thoracique latéral gauche, nécessitant une hospitalisation de 4 jours. Il existait, à l'entrée du patient, une spoliation sanguine, avec chute des chiffres d'hémoglobine et de l'hématocrite. Le traitement associe :

. substitution par C.P.L. dont le total atteint 9 120 u. de F.A.H. A ;

. des transfusions : 6 culots globulaires A Rh positif en 2 jours.

L'anémie a été parfaitement compensée par ce traitement de courte durée.

Il est hospitalisé le 8 septembre 1973 à l'hôpital Antoine-Béclère, pour hématome latéro-thoracique gauche apparu la veille à la suite d'un effort. L'hématome est volumineux, douloureux, avec un certain degré de gêne respiratoire.

Le traitement comporte un pansement compressif, une corticothérapie et une substitution par C.P.L. à raison de 6 flacons par jour pendant 4 jours. Ce volumineux hématome entraîne une spoliation sanguine importante, qui fait transfuser au malade 5 culots globulaires isogroupes A Rh positif à J 1, J 2 et J 3. Ces transfusions isogroupes demeurent inefficaces : l'hémoglobine continue à baisser au fur et à mesure des transfusions (figure n° 5 et tableau VII).

Cette anémie, maximale à J 5, alors que Bruno a reçu un total de 12 300 u. de F.A.H. A, est de type hémolytique, comme en témoignent :

. une hyper-réticulocytose ;

...

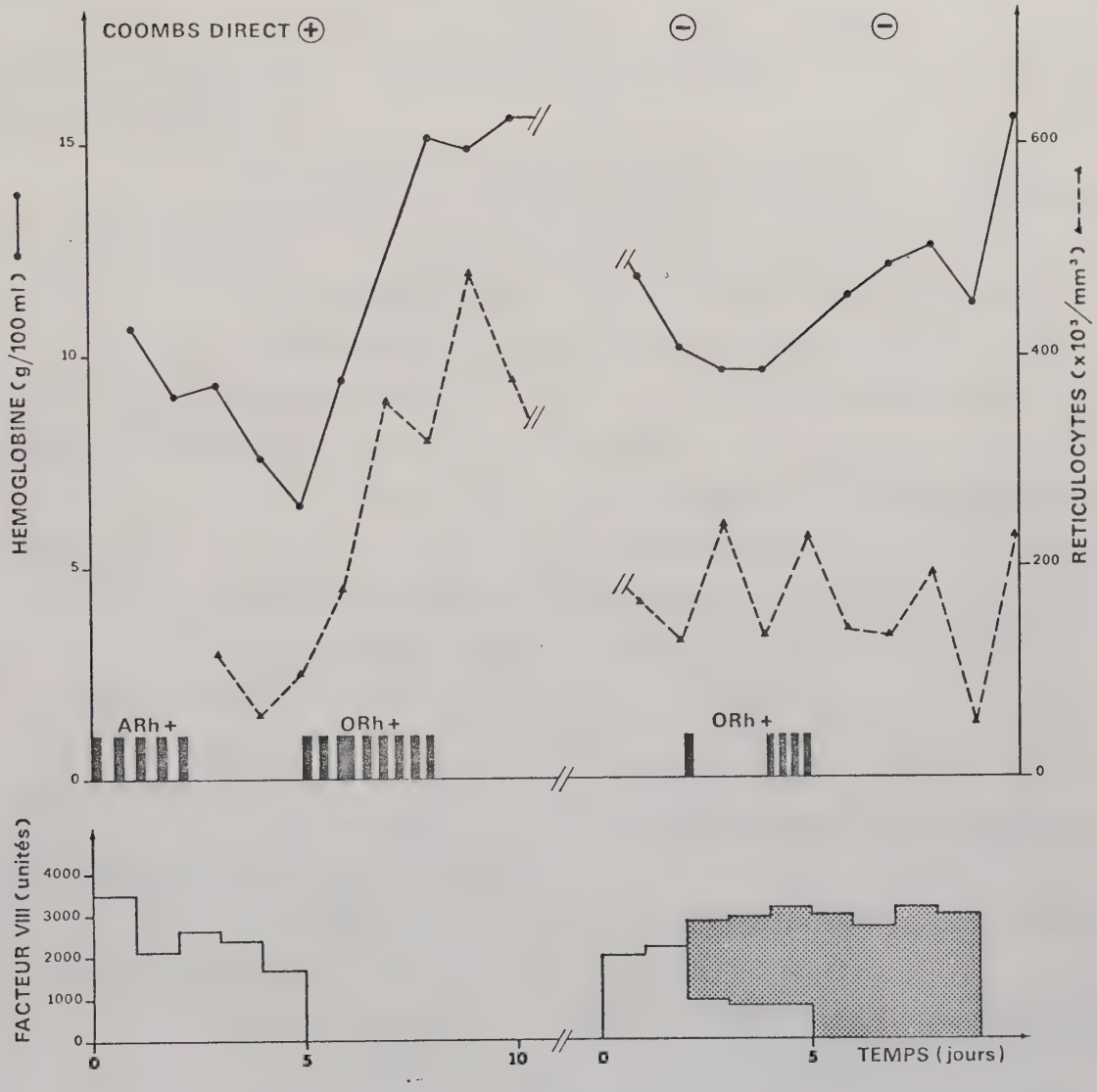

Figure 5 - Observation n° 6. CA... Bruno.

. une élévation de la bilirubine indirecte ;

. un Coombs direct positif tant avec les antiglobulines polyvalentes qu'avec les spécifiques anti-IgM et anti-complément.

. L'élution par la chaleur révèle une agglutinine anti-A fixée sur les globules A, alors que le même Coombs indirect est négatif pour les hématies O.

L'installation de cette anémie nécessite :

. l'arrêt du traitement substitutif, d'autant que l'hématome est indolore et commence à diminuer ;

. la transfusion de 3 culots globulaires O Rh négatif à J 5, J 6 et J 7 permettent de réparer l'anémie (figure n° 5).

Le malade sort à J 10, porteur d'un hématome encore important mais indolore et en voie de résorption.

Il est rehospitalisé le 1er octobre 1973 pour récidive de l'hématome. A l'examen, il persiste un hématome ovalaire entouré dans ses portions externe et inférieure d'un bourrelet dur, tendant la peau.

Le traitement immédiat comporte une corticothérapie et une substitution par C.P.L. à raison de 4 flacons par jour à J'1 et J'2. L'anémie se réinstalle rapidement et est maximale à J'3, après un apport total de 4 180 u. de F.A.H. A. Le même jour :

. une transfusion d'un culot globulaire O Rh négatif est insuffisante pour compenser l'anémie ;

. La substitution est alors effectuée sur un mode mixte : 2 C.P.L. plus 4 C.P.I. par jour (de J'3 à J'5).

La persistance de l'anémie fait modifier la thérapeutique:

- transfusion de 4 culots globulaires O Rh négatif ;
- substitution effectuée uniquement par cryoprécipités isogroupes de J'6 à J'9 : ces mesures sont suffisantes pour réparer l'anémie (figure n° 5).

Il s'agissait là encore d'une anémie de type hémolytique ; on retrouve : l'hyper-réticulocytose, l'élévation de la bilirubine indirecte, par contre, les Coombs directs, pratiqués avant et après transfusions de C.P.L. ou C.P.I. sont restés négatifs.

Sur le plan local, on assiste à une amélioration avec diminution du volume de l'hématome autorisant la sortie du malade à J 17. Néanmoins, pour éviter une nouvelle récidive, le malade recevra

...

une transfusion tri- puis bi-hebdomadaire d'un C.P.I. Cette substitution prophylactique dure deux mois et ne provoque aucune modification des hémogrammes successifs.

Observation n° 7 : WA... Patrick (tableau VIII)

Le jeune Patrick, âgé de 19 ans, est un hémophile A sévère dont les principaux antécédents sont :

- deux fractures fémorales successives en 1961 et 1963, avec hémarthrose du genou gauche laissant un flexum résiduel ;
- hémarthroses du genou droit en 1966, douleurs du flanc droit en 1968 évoquant une appendicite ou un hématome du psoas, mais le tout regresse sans traitement, en 48 heures.
- hospitalisation en 1969 pour hémarthroses récidivantes du genou droit.

Durant toutes ces hospitalisations précédentes, Patrick n'a jamais reçu de fraction anti-hémophilique. Ces épisodes ont été traités seulement par immobilisation et corticothérapie.

- Hospitalisation de décembre 1973 :

A la suite d'un accident de la voie publique, le 23 au soir, Patrick est dirigé sur l'hôpital Antoine-Béclère avec :

- une épistaxis ;
- une bouffissure importante du visage, due à un hématome péri-orbitaire (F. O. normal) ;
- une fracture du condyle interne du fémur droit.

On pratique une ostéosynthèse le lendemain matin, sous couverture de C.P.L. Ce traitement substitutif se poursuivra à raison de 8 flacons par jour, de J 1 à J 4. Dès J 2, baisse du chiffre de l'hémoglobine, tandis que les Coombs directs sont positifs aux deux prélèvements effectués avant et après passage de C.P.L. Cette anémie dure jusqu'à J 4 où elle est maximum, alors que le patient a reçu un total de 13 800 u. de F. A. H. A. C'est une anémie hémolytique, comme en témoignent :

- une ascension nette de la bilirubine libre ;
- une hyper-réticulocytose ;
- surtout, un nouveau Coombs direct positif avec élution d'un anti-A par la chaleur (J 4) (tableau VIII).

...

TABLEAU VIII

Observation n° 7 - WA... Patrick

Motif de l'hospitalisation	Fracture du condyle interne fémoral
Date Hb minimum	J 4
Quantité de C.P.L. reçue (u. F.A.H. A)	13 800
Hb minimum (g/100 ml)	8,5
Pic de réticulocytes (par mm^3)	160 000
Bilirubine (mg/l)	
totale	14
indirecte	14
Coombs direct	positif
Elution d'un anti-A	positive

La transfusion de culots globulaires O Rh positif et l'arrêt des C.P.L. remplacés par des C.P.I. permettent la réparation de cette anémie (figure n° 6). Sous ce traitement par C.P.I. exclusivement (sauf à J 15, où le manque de C.P.I. fait prescrire 2 flacons de C.P.L. associés à la substance de Witebski), il réapparaît à J 13, une nouvelle chute de l'hémoglobine, alors qu'un nouveau Coombs direct était négatif, bien compensée par une transfusion de sang O Rh positif.

La substitution est arrêtée à J 21, et le blessé sort avec un plâtre à J 26. Il sera rehospitalisé une semaine plus tard, pour hépatite virale.

Observation n° 8 : CA... Guy (Tableau IX)

Hémophile A sévère de groupe sanguin A 1, Rhésus positif, ce patient âgé de 25 ans souffre d'hémarthroses répétitives du genou gauche entraînant un genu valgum. L'aggravation de l'état de cette articulation fait proposer une ostéotomie de correction, pour laquelle le malade est hospitalisé le 15 juin 1974 dans le service d'orthopédie de l'hôpital Antoine-Béclère. Le bilan d'entrée montre l'absence d'agglutinines irrégulières et d'anticoagulant circulant.

Il est opéré le 18 juin 1974, sous C.P.L. puis traité à raison de 6 flacons de C.P.L. par jour (2 flacons toutes les 8 heures) pendant les 3 premiers jours post-opératoires, puis 7 C.P.L. quotidiens pendant les 4 et 5 jours post-opératoires, substitution mixte ensuite par C.P.L. et C.P.I. pendant les 6 et 7ème jours post-opératoires, par cryoprécipités isogroupes exclusivement à partir du 8ème jour. Au 9ème jour, après une chute progressive de son chiffre d'hémoglobine, il développe une anémie hémolytique à 9,3 puis 7,2 g/100 ml d'hémoglobine, hyper-réticulocytose, Coombs direct positif et élution d'un anti-A positive. A cette date, il a reçu 19 500 u. de F.A.H. A (figure n° 7). Cette anémie a été compensée par l'arrêt de la substitution par C.P.L. remplacées par des C.P.I. Une transfusion de 3 culots A Rh positif fut insuffisante pour remonter l'hémoglobine de manière permanente. Le titrage dans anti-B de ce patient en milieu salin montre un accroissement de leur titre de :8 le premier jour, à 64 le 12ème (à cette date, la substitution n'était effectuée que par C.P.I.). Il faut noter que dans

...

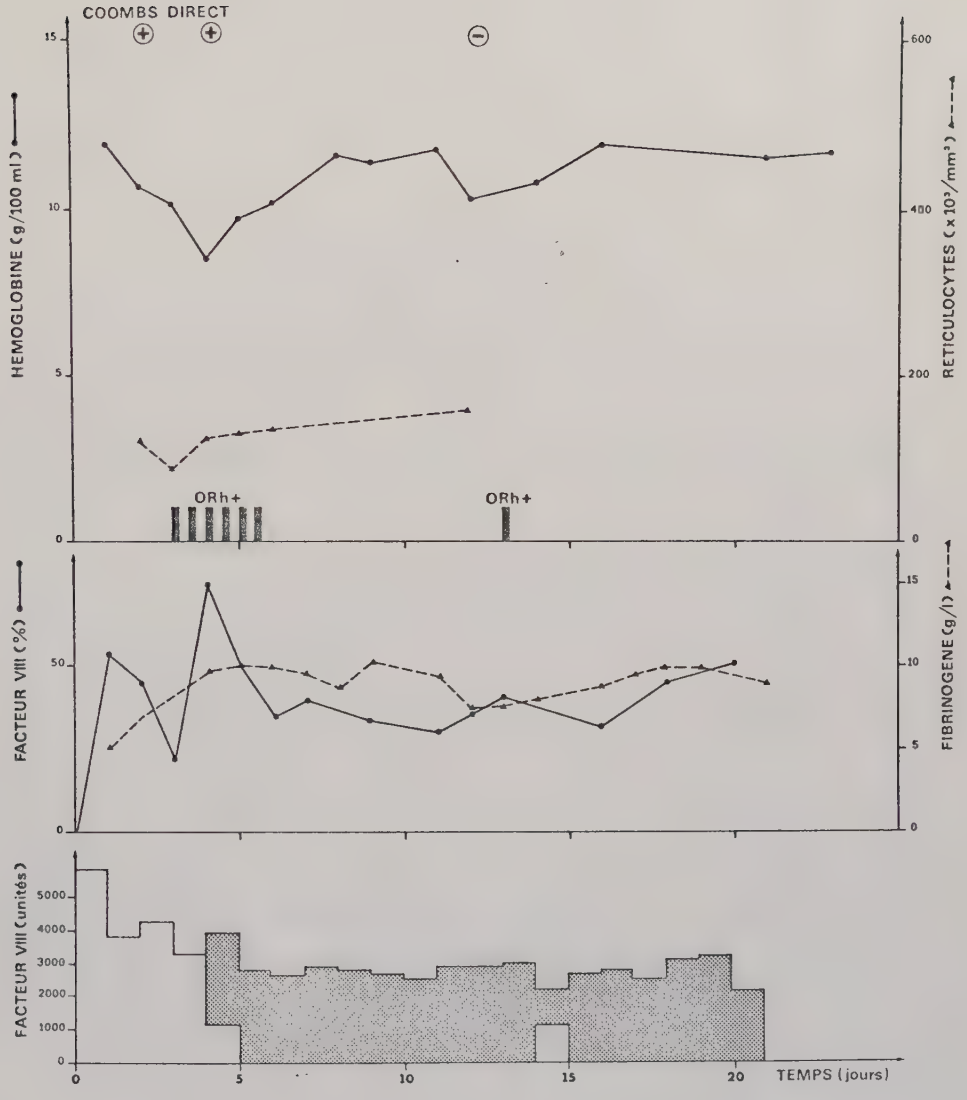

Figure 6 - Observation n° 7. WA... Patrick.

TABLEAU IX

Observation n° 8 - CA... Guy

Motif de l'hospitalisation	Ostéotomie
Date Hb minimum	J 10
Quantité de C.P.L. reçue (u. F.A.H. A)	19 500
Hb minimum (g/100 ml)	7,2
Pic de réticulocytes (par mm^3)	400 000
Bilirubine (mg/l)	
Coombs direct	positif
Elution d'un anti-A	positive

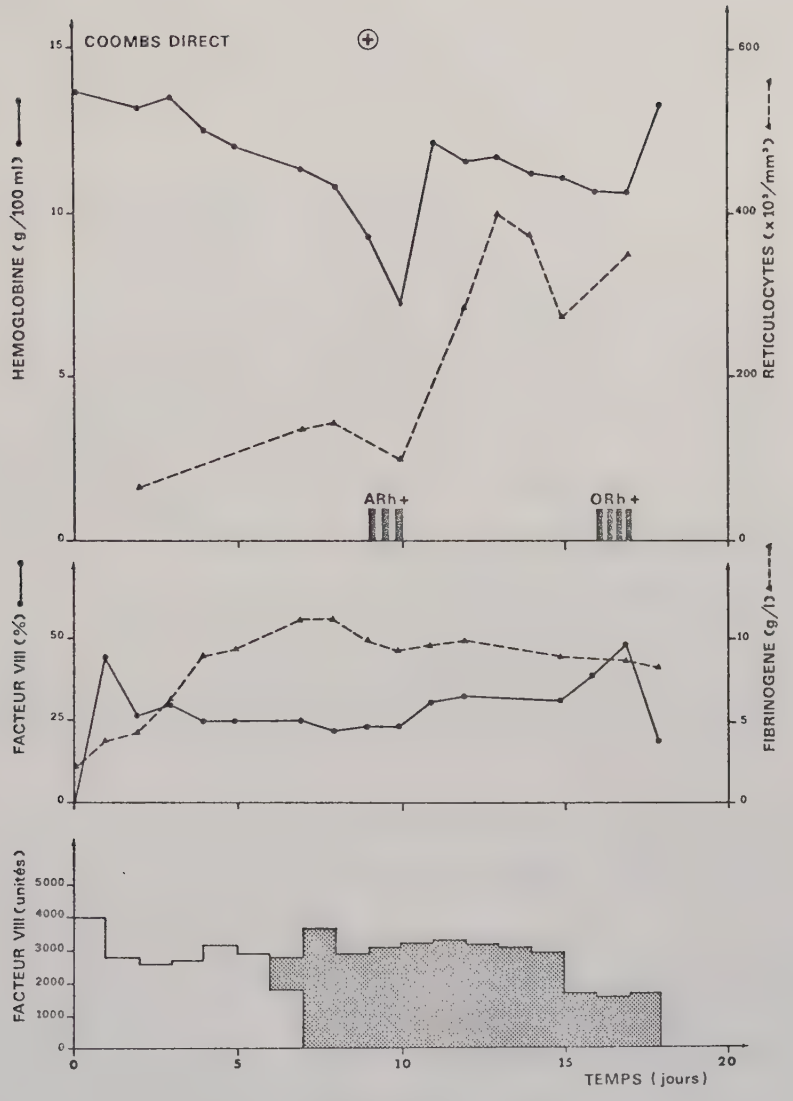

Figure 7 - Observation n° 8. CA... Guy.

dans la soirée du 5ème jour post-opératoire, ce patient a développé une hyperthermie à 40°C avec vomissements mais sans éruption, à la fin de l'administration d'un C. P. L. Cet épisode ne fut que temporaire, et les hémocultures restèrent négatives. L'analyse bactériologique du flacon n'a malheureusement pas pu être entreprise.

Témoin n° 1 : IS... Marcel (tableau X)

Cet hémophile A modéré (facteur VIII = 8 %) de groupe sanguin 0 Rhésus positif est âgé de 53 ans.

Son histoire hémorragique se résume, pratiquement, à des hématomes de cuisse droite.

A l'âge de 15 ans, premier hématome à la suite d'une chute, qui fait découvrir l'hémophilie, et est drainé chirurgicalement.

La répétition des hématomes de cuisse provoque des remaniements osseux avec pseudo-tumeur du fémur, qui sont suffisamment importants pour justifier une première intervention,en octobre 1969 : évacuation des différentes poches de l'hématome et abrasion des spicules osseux.

Cette intervention, reculée de 2 mois en raison d'une hépatite virale, est réalisée sous traitement substitutif (F. Ia ou C. P.) qui durera 45 jours.

En mai 1972, une nouvelle évacuation d'un hématome disséquant de cette cuisse est nécessaire. Le malade reçoit alors 6 C.P.L. par 24 heures pendant 28 jours, sans baisser son chiffre d'hémoglobine. Au jour 13, il a reçu plus de 30 000 u. de F. A. H. A.

En 1973, nouvelle hospitalisation pour exploration de sa fonction hépatique.

En janvier 1974, rehospitalisation pour ostéosynthèse après fracture spontanée du tiers inférieur de ce fémur très remanié. La substitution est réalisée par 6 flacons de C.P.L. par 24 heures pendant plus de 40 jours, sans baisse du chiffre d'hémoglobine, avec une bilirubine modérément élevée (en rapport avec la réabsorption de l'hématome et l'hépatite persistante), un taux de réticulocytes normal. Les Coombs directs resteront négatifs.

...

TABLEAU X

Témoin n°	1			2		
Groupe sanguin	O Rh +			O Rh +		
Degré hémophilie A	modéré			sévère		
	Hémoglobine g/100 ml	Fibrinogène g/l	Quantité C.P.L. reçue (u. F.A.H. A)	Hémoglobine g/100 ml	Fibrinogène g/l	Quantité C.P.L. reçue (u. F.A.H. A)
J 1	12,1			12,2	8,30	
J 5	13,7	7,10	16 500	12,6	16,20	18 800
J 7	13,3	6,85	21 900	13	18,10	
J 9	13,6	7,30	27 600	12,9	15,10	40 500
J 11	13,3	7,50		11,1	16,20	51 000
J 15	13,4	8,50	32 800	10,2	17	
J 20	13,2	10,40		(J 22) 12,4	20,20	
Bilirubine totale	12			9		
indirecte	12			9		
(mg/l)						
Réticulocytes/mm^3	97 000			(J 20) 160 000 (J 25) 109 000		
Coombs direct	négatif			négatif		

Témoin n° 2 : YA... Patrick (tableau X)

Cet hémophile A sévère, âgé de 22 ans, de groupe sanguin 0 Rh positif, présente début janvier 1974, des douleurs testiculaires intenses. Le diagnostic de torsion du testicule gauche n'est porté qu'au bout de 10 jours d'évolution, et l'intervention chirurgicale (nécessité de castration devant l'infarcissement massif du testicule) est faite en province le 24 janvier 1974. Pendant l'intervention et les jours suivants, le malade reçoit un total de 23 C. P. L. et deux cryoprécipités, dont la préparation restent inconnue. Les suites opératoires sont marquées:

- une hémorragie, lors du retrait du drain du 3ème jour post-opératoire ;
- l'apparition d'une fièvre transitoire et inexpliquée ;
- l'allongement du temps de céphaline-kaolin, sous substitution, qui fait craindre la survenue d'un anticoagulant circulant.

Ce malade est transféré à Antoine-Béclère le 1er février 1974.

Cette hospitalisation est marquée par les faits suivants :

- sur le plan local : il persistait au niveau de la cicatrice opératoire une désunion, siège d'une hémorragie. On évacue un hématome intra-scrotal aux 7ème puis 11ème jours post-opératoires. La persistance de l'hémorragie entraîne l'apparition d'une anémie réparée par deux transfusions isogroupes.
- Le traitement substitutif est assuré par 12 C.P.L. par 24 heures : il ne permet pas d'obtenir une élévation franche du facteur VIII qui reste autour de 20 %. Ce traitement est réduit à 10 C. P. L. par 24 heures du 20ème au 24ème jour, puis diminution progressive et arrêt le 12 mars 1974. Cet apport massif en C.P.L. provoque la montée du fibrinogène à plus de 20 g/l, qui fait pratiquer deux plasmaphérèses aux 8ème et 9ème jours. Au 11ème jour d'hospitalisation, ce patient avait reçu plus de 50 000 u. de F. A. H. A.
- Sous ce traitement, il n'a pas été observé de stigmates d'hémolyse : les taux de réticulocytes et de bilirubine étaient normaux et le Coombs direct négatif à deux reprises.

...

R E S U L T A T S E T I N T E R P R E T A T I O N

I - ACCIDENTS HEMOLYTIQUES

Les huit malades de groupe sanguin A étudiés ont tous développé une anémie hémolytique (tableaux I à IX).

1° Date d'apparition de l'anémie hémolytique

Le traitement substitutif par C.P.L. à doses massives, provoque rapidement une baisse du chiffre de l'hémoglobine.

Arbitrairement, nous sommes convenus d'étudier l'anémie hémolytique le jour où le chiffre d'hémoglobine était le plus faible : J1 correspondant au premier jour du traitement. Pour les huit hémophiles étudiés, il varie de J5 (observation n° 6) à J11 (observation n° 3). Il est, en moyenne, de J 9.

Les deux hémophiles témoins, soumis à une substitution par C. P. L. au moins identique, gardent un chiffre d'hémoglobine élevé (13,6 et 12,9 g/100 ml) à cette même date d'évolution (tableau X).

2° Volume de C. P. L. reçu exprimé en u. de F. A. H. A par jour

Les hémophiles étudiés pesaient en moyenne entre 60 et 70 kg. La quantité d'unités de F.A.H. A apportée par les C. P. L. a été calculée sur la base d'un apport de 40 u. de F.A.H. A par kg de poids et par jour.

L'apport journalier en u. de F.A.H. A est en règle de 3 000 $\pm$ 500 u. Chez les hémophiles de groupe A, l'hémolyse est apparue après la transfusion de 12 300 u. (observation n° 6) à 26 500 u. (observation n° 3).

Cet apport journalier est en moyenne de 18 000 u. de F.A.H. A.

...

3° Les symptômes cliniques

Il n'a jamais été observé de splénomégalie ou d'ictère. Seul, un des hémophiles (observation n° 1) a présenté un subictère.

4° Les symptômes biologiques

Ils sont par contre presque tous présents.

L'anémie est constante : elle apparaît dès les premiers jours de substitution et est sévère (hémoglobine : 6,5 g/100 ml). Elle persiste tant que dure la substitution par C.P.L. et elle ne peut être corrigée que temporairement par des transfusions sanguines.

L'hyper-réticulocytose franche est retrouvée chez presque tous les hémophiles de groupe sanguin A. Seul l'un d'entre eux (observation n° 7) a présenté une poussée réticulocytaire modeste mais réelle.

L'élévation de la bilirubine totale est retrouvée chez presque tous les malades. Elle pourrait s'expliquer en partie, pour certains patients par la résorption d'une collection sanguine. En fait, l'hémophile qui a eu la plus faible élévation de sa bilirubine est celui qui souffrait d'un volumineux hématome (observation n° 6). Les deux témoins ont gardé un chiffre de bilirubine normal sous traitement par C. P. L.

Le Coombs direct : cet examen n'est positif que chez 5 des 8 hémophiles étudiés. Dans ce groupe de 5, chez Bruno CA... (observation n° 6), cet examen était positif lors de sa première hospitalisation mais était négatif lors de la seconde.

Le sérum de 4 malades a été testé vis-à-vis des antiglobulines.

	Anti IgG	Anti IgM	Anti C'3-C'4
Observation 1	-	-	+
Observation 5	-	non fait	+
Observation 6	-	+	+
Observation 8	-	+	+

L'élution d'un anti-A est positive chez 4 hémophiles.

...

5° Association avec un anticoagulant circulant

Seul l'un des hémophiles (observation n° 3) a développé un anticoagulant circulant au décours de son épisode.

Aucun d'entre eux n'en possédait en début d'hospitalisation.

II - LES FRACTIONS COAGULANTES : C. P. L.

A - Résultats d'Antoine-Béclère (laboratoire d'hémobiologie, Docteur Gross, et laboratoire d'immunologie, Professeur Pillot).

1° Titrage des agglutinines anti-A et anti-B

- Recherche des anticorps naturels :

C. P. L. : n° du lot	Anti-A	Anti-B
419	1/8	1/8
408	1/8	1/16
407	1/8	1/16
400	1/4	1/8
399	1/8	1/8
379	1/8	1/8
414	1/8	1/4
416	1/8	1/8
325	1/4	1/8
394	1/4	
377	1/8	
393	1/4	
413	1/4	
497	1/8	
383	1/4	
394	1/8	

- Recherche des anticorps immuns anti-A et anti-B : recherche négative sur tous ces lots.

- Il faut noter, d'une part que les lots 408 et 416 ont été également étudiés par le laboratoire de M. Pillot, et d'autre part que le lot 399 a été également étudié par le C. N. T. S.

...

2° Analyse immunochimique

L'étude porte sur cinq lots :

- lot 408 n° 35
- lot 401 n° 44
- lot 433 n° 57
- lot 416 n° 87
- lot 440 n° 91

Le fibrinogène a été éliminé d'une partie aliquote par chauffage à 56°C pendant 10 mn puis centrifugation.

Dans chaque prélèvement, les protéines sont dosées comparativement avant et après élimination du fibrinogène par la méthode du Biuret.

	Avec fibrinogène (g/l)	Après élimination du fibrinogène (g/l)
Flacon n° 35 - Lot 408	16	5
Flacon n° 44 - Lot 401	20	6
Flacon n° 57 - Lot 433	16	5
Flacon n° 87 - Lot 416	16	5
Flacon n° 91 - Lot 440	18	5

L'analyse immunoélectrophorétique des fractions avant et après élimination du fibrinogène a montré la présence d'une quantité importante d'albumine et d'une dizaine de protéines sériques, notemment des immunoglobulines. La suite des investigations est alors conduite sur les seuls flacons 35 et 44 défibrinés.

Dosage des immunoglobulines sur le flacon n° 35 (méthode de Mancini) :

IgG	1 mg/ml
IgM	0,21 mg/ml
IgA	0,094 mg/ml

Titrage des agglutinines anti-A, anti-B, anti-O sur le flacon n° 35 - Lot 408 :

anti-A : + au 1/40 (± 1/80)

anti-B : + au 1/40 (± 1/80)

anti-O : - au 1/5

...

Concentration et gel-filtration :

Après échec technique de la concentration du flacon n° 44 lot 401, 50 ml du flacon n° 35 lot 408 sont concentrés à 10 fois par pression positive sur appareil Amicon.

Cet échantillon concentré est alors filtré sur Gel de Sephadex G 200. La courbe obtenue montre 3 pics correspondant aux trois pics obtenus avec le sérum non concentré.

Les immunoglobulines présentes dans les différents pics sont caractérisées par immunodiffusion double.

§ pic exclu (1er pic) : présence d'IgM ;

§ 2ème pic : IgG plus une autre protéine sérique non identifiée

§ Protéines se séparant entre le 2ème et le 3ème pic : IgA et IgG.

Localisation des agglutinines :

On dose les anticorps par agglutination sur plaque et en tube :

- avec les 3 fractions protéiques obtenues par gel-filtration ;
- et la fraction initiale défibrinée.

Les résultats sont consignés dans le tableau suivant :

	ANTI-O		ANTI-A		ANTI-B	
	Tube	Plaque	Tube	Plaque	Tube	Plaque
Fraction initiale défibrinée	- 1/5	- 1/5	+ 1/20	+ 1/20	+ 1/40	+ 1/20 (± 1/40)
Pic exclu (1er pic) IgM	- 1/5	- 1/5	+ 1/20 (± 1/40)	+ 1/20	+ 1/40 (± 1/80)	+ 1/20 (± 1/40)
2ème pic (IgG)	- 1/5	- 1/5	- 1/5	- 1/5	- 1/5	- 1/5
Protéines se séparant entre le 1° et le 2° pic (IgA et IgG)	- 1/5	- 1/5	- 1/5	- 1/5	- 1/5	- 1/5

L'activité anticorps anti-A et B ne se retrouve que dans la fraction initiale privée de son fibrinogène et dans le 1er pic (IgM). Cette activité anticorps est liée aux seules immunoglobulines M.

...

La même étude immunochimique a été réalisée sur le flacon 13 du lot 452.

1° Etude immunochimique (laboratoire du Pr Pillot)

Les protéines dosées par la méthode du biuret ont un taux de 15 g/l dans la fraction initiale et de 5,71 g/l dans le produit privé de son fibrinogène. L'immunoélectrophorèse montre une image voisine de celles déjà présentées (figure n° 8). Le dosage des immunoglobulines par la méthode de Mancini :

IgG	1 mg/ml
IgA	0,235 mg/ml
IgM	0,13 mg/ml

La séparation sur Séphadex G 200 fournit là encore trois pics. Les immunoglobulines présentes dans les deux premiers pics sont caractérisées par immunodiffusion double :

- premier pic : présence d'IgM mais aussi d'un peu d'IgG ;
- protéines du second pic : présence d'IgG

(les IgA s'éluent dans les deux pics en quantité modeste).

L'activité agglutinante de la fraction initiale privée de son fibrinogène et celle des deux pics est testée et titrée vis-à-vis d'hématies A1, B et O. Les résultats sont les suivants :

Hématies	O	A1	B
Fraction initiale défibrinée	- 1/4	+ 1/32	+ 1/32
Premier pic	+ 1/4	+ 1/32	+ 1/32
Deuxième pic	- 1/1	+ 1/8	+ 1/4

Ainsi, dans cette fraction, il existe une activité agglutinante vis-à-vis des hématies A1 et B liée à la présence d'anti-A et d'anti-B naturels (IgM) mais aussi à un plus faible degré à la présence d'anticorps immuns (IgG).

De plus, la positivité de la réaction vis-à-vis des hématies O traduit la présence d'anticorps anti-H (IgM) retrouvés uniquement dans le premier pic.

2° Etude immuno-hématologique (laboratoire du Dr Gross)

Ces données nouvelles ont été reprises par des méthodes immuno-hématologiques sur un échantillon de la fraction initiale et des

...

Figure 8 - Immuno-électrophorèse du C. P. L.
lot 452 n° 13.
- en haut : C. P. L. non défibriné.
- en bas : C. P. L. défibriné.

deux pics ainsi préparés. Le titrage des agglutinines anti-A et anti-B a été réalisé par dilution de 2 en 2 en sérum physiologique avant et après absorption par la substance de Witebski.

L'agglutination vis-à-vis des hématies O a été retrouvée dans le premier pic, au taux de 1/1. Les autres résultats sont mentionnés ci-dessous :

Hématies	Fraction initiale avant absorption	1er pic avant absorption	1er pic après absorption	2ème pic avant absorption	2ème pic après absorption
A1	+ 1/4	+ 1/4	-	+ 1/8	-
B	≠ 1/16	+ 1/8	-	+ 1/2	-
O	non fait	+ 1/1	non fait	non fait	

Cette étude corrobore l'analyse immuno-chimique pour la présence d'agglutinines anti-A et anti-B dans les deux pics ainsi que pour la recherche positive d'anti-H dans le premier pic.

Par contre, aucune agglutination n'a été observée après absorption de l'élution du second pic par la substance de Witebski. Cette substance dont le but est d'absorber les agglutinines naturelles (IgM) aurait dû permettre une agglutination franche avec cet éluat riche en IgG.

La comparaison de ces deux techniques montre la plus grande sensibilité de l'analyse immunochimique.

B - Les résultats du C. N. T. S.

Parallèlement, ces recherches ont été effectuées au C. N. T. S. sur un certain nombre de lots. Nous remercions le professeur Jean-Pierre Soulier d'avoir bien voulu nous communiquer ses résultats et de nous avoir autorisés à les inclure dans ce travail.

1° Recherche d'anticorps immuns anti-A et anti-B sur les C.P.L.

Lots étudiés :	
395	27/12/72
373	
336	06/06/72
377	14/11/72
383	28/11/72
401	10/01/73
308	22/02/72
399	08/01/83
382	27/11/72

Cinq examens ont été pratiqués :

- recherche d'hémolysine ;
- titrage des anticorps agglutinants ;
- titrage des anticorps incomplets ;
- électrophorèse ;
- immuno-électrophorèse.

Résultats

Lot	Recherche d'hémo-lysines	Titrage des anticorps agglutinants		Titrage des anticorps incomplets	
		anti-A	anti-B	Anti-A	anti-B
373	-	1/1	1/1	1/8	1/16
336	-	1/1	0	1/16	1/8
383	-	0	1/2	0	1/8
401	-	1/1	1/1	1/8	1/4
382	-	1/4	1/4	1/16	1/8
395	-	1/1	1/1	1/8	0
377	-	1/1	1/1	0	1/8
308	-	1/2	1/2	1/16	1/16
399	-	1/2	1/2	1/4	1/8

2° Etude électrophorétique et immunoélectrophorétique (Dr Lambin)

a) Electrophorèse après coagulation à 56° du fibrinogène.

Les électrophorégrammes de tous les pools examinés ont le même aspect, à savoir :

- une tumeur faible en protéines ;
- présence de 3 bandes :
  1. correspondant à l'albumine ;
  2. au fibrinogène soluble ;
  3. une bande de mobilité β n'ayant pas sa correspondance dans le sérum normal (facteur VIII ?)

b) Immunoélectrophorèse des cryoprécipités met en évidence deux arcs principaux :

- arc rapide et important correspondant à l'albumine ;

...

- arc de migration cathodique correspondant à des gamma-globulines (en taux absolu très faible) ;

- arc en position intermédiaire très faibles et non identifiables.

3° Examens des C.P.L. et des plasmas correspondants.

Recherche et titrage des iso-agglutinines.

Ces examens ont été effectués par centrifugation (1 mn à 1 000 tours/mn) et sédimentation (5 heures à la température du laboratoire).

Résultats (tableau XI)

- Recherche d'hémolysines : négative.

- Absorption complète après addition d'un volume de substances de Witebski.

...

TABLEAU XI

Examens (*) des C.P.L. et des plasmas correspondants

Recherche et titrage des iso-agglutinines.

	Fraction 321	Fraction 322	Fraction 323	Fraction 324	Fraction 325	Plasma 325	Fraction 326	Plasma 326
Anti-A								
centrifugation	1/8	1/32	1/32	1/16	1/16	1/16	1/32	1/32
sédimentation	1/8	1/16	1/16	1/8	1/8	1/8	1/32	1/16
Anti-B								
centrifugation	1/8	1/32	1/16	1/16	1/8	1/8	1/32	1/32
sédimentation	1/8	1/16	1/8	1/8	1/4	1/4	1/16	1/16

	Fraction 327	Plasma 327	Fraction 328	Plasma 328	Fraction 329	Plasma 329	Fraction 330	Plasma 330
Anti-A								
centrifugation	1/32	1/8	1/16	1/8	1/32	1/32	1/32	1/32
sédimentation	1/8	1/16	1/8	1/4	1/16	1/16	1/16	1/16
Anti-B								
centrifugation	1/16	1/8	1/16	1/8	1/32	1/32	1/16	1/32
sédimentation	1/8	1/8	1/8	1/8	1/8	1/8	1/16	1/8

- Recherche d'hémolysines : négative.
- Absorption complète après addition d'un volume de substances de Witebsky.

(*) Ces examens ont été effectués par centrifugation (1 minute à 1 000 tours/minute) et sédimentation (5 heures à la température du laboratoire).

D I S C U S S I O N

L'introduction en thérapeutique de fractions coagulantes riches en facteur antihémophilique A (facteur VIII) a considérablement modifié le traitement de l'hémophilie. En particulier, l'apport de concentrations élevées de facteur VIII sous un faible volume autorise désormais les interventions chirurgicales et surtout la chirurgie orthopédique dans le traitement des séquelles des hémarthroses.

Mais l'utilisation quotidienne et répétée de ces fractions coagulantes et les quantités importantes nécessitées par le traitement prolongé des hématomes, ou la chirurgie, nous a appris à reconnaître les complications secondaires liées au traitement substitutif : l'apparition d'anticoagulant circulant anti-facteur VIII, la transmission de l'hépatite virale et la survenue d'accidents hémolytiques dont le mécanisme a été souvent discuté.

Dès 1956, Rutzky et coll. (14) rapportent les premières observations d'anémies hémolytiques chez quatre hémophiles de groupe A après injection de plasma préparé à partir d'un pool de sujets normaux. Dans le premier cas, le malade, un garçon de 4 ans 1/2, reçoit pour une hémorragie intra-crânienne, 2 250 ml de plasma en six jours. Le quatrième jour, la chute brutale de l'hémoglobine à 6,7 g (en dépit de l'amélioration des signes hémorragiques) avec ictère et splénomégalie, réticulocytose

...

et sphérocytose, s'accompagne d'un test de Coombs positif au 7ème jour. Le plasma utilisé pour le traitement contient un taux élevé (1/64ème) d'agglutinines anti A. L'arrêt du traitement entraîne la regression des signes cliniques et biologiques en 8 jours.

Dans le deuxième cas, un hémophile âgé de 9 ans de groupe A reçoit 2 000 ml de plasma provenant de la même source en 5 jours. Les mêmes anomalies sont observées au 6ème jour et regressent avec l'arrêt du traitement. Chez le même malade, au cours de deux autres hospitalisations successives, les relations entre l'anémie hémolytique et le matériel injecté ont pu être précisées. Un traitement par 1 800 ml de plasma ayant un faible titre en agglutinines anti A (1/16) n'entraîne que des modifications biologiques minimes. Par contre, l'injection de 1 800 ml de plasma ayant un titre élevé (1/512) reproduit les accidents de la première hospitalisation, même après neutralisation préalable des agglutinines par addition de substances solubles A. Ceci évoque soit la présence d'anticorps immuns non neutralisés, soit la dissociation des complexes immuns in vivo.

Deux autres hémophiles de groupe A recevant des quantités importantes de plasma ont présenté les mêmes accidents, à savoir une anémie hémolytique avec réticulocytose, sphérocytose, augmentation de la fragilité osmotique des érythrocytes, augmentation de la bilirubine et test de Coombs positif. Par contre, l'injection de 700 ml du même plasma en 4 jours à un hémophile âgé de 4 ans de groupe 0 n'a entraîné aucune modification hématologique.

Depuis ces premières observations, différents auteurs ont rapporté la survenue d'accidents hémolytiques après injection de plasma ou de dérivés du plasma (cryoprécipité, fractions coagulantes).

...

Topley et coll. (19) attirent l'attention sur l'incidence élevée d'anémie avec hémoglobinurie chez les grands brûlés traités par plasmathérapie lorsque les sujets appartiennent au groupe A ou AB.

Delmas-Marsalet et coll. (4) rapportent l'incidence d'anémies hémolytiques chez l'hémophile de groupe sanguin A, B ou AB traité par du plasma frais congelé à la dose de 15 à 20 ml par kg de poids et par jour. Au cours de 26 épisodes hémorragiques chez 10 hémophiles de type A ou B, 16 accidents hémolytiques ont été observés. Ces accidents surviennent en l'absence de toute iso-immunisation transfusionnelle préalable. Le test de Coombs est habituellement positif bien que faiblement et souvent seule l'élution des hématies du malade apporte la preuve du rôle des anticorps A B. Mais l'anémie est suffisante, avec des taux d'hémoglobine de 6 à 10 g pour 100 ml pour nécessiter des transfusions de sang. Deux observations analogues chez les hémophiles ont été rapportées par Oberman et coll. (11) après injection de plasma lyophilisé.

L'utilisation de cryoprécipité ou de fractions coagulantes ne diminue pas le risque d'accidents hémolytiques.

In vitro, Delmas-Marsalet et coll. (4) ont montré que le contenu en anticorps anti A naturels ou immuns était élevé dans le cryoprécipité préparé par la méthode de Pool (11) et suggèrent même un concentration de ces anticorps dans les cryoprécipités. Ces résultats ont été confirmés par Seeler (17), en particulier en ce qui concerne les anticorps immuns. Le traitement des hémophiles de groupe A par des quantités importantes de cryoprécipité provenant de pool de plasmas peut se compliquer,de ce fait, d'anémies hémolytiques analogues à celles décrites après injection de plasma (16, 17).

...

Il en est de même pour les fractions purifiées. In vivo des accidents hémolytiques ont été rapportés après injection de fractions enrichies en facteur VIII préparées par des méthodes différentes. C'est le cas du Fibro-AHF préparé par Merck, Sharp and Dohme (7, 8, 15, 17), de l'"Hemophil" préparé par les laboratoires Hyland (13), du concentré facteur VIII préparé par les laboratoires Abbott (5). L'étude in vitro montre la présence d'un taux variable d'anticorps naturels et immuns dans ces différentes préparations variant de 1/15ème à 1/100ème, de même que dans les concentrés facteur VIII préparés à partir de cryoprécipités par précipitation par le polyéthylèneglycol (18).

Les données de la littérature concernant une trentaine d'observations, l'expérience personnelle acquise au cours des deux dernières années à l'hôpital Antoine-Béclère, à Clamart, à propos de huit malades, autorise désormais la description du syndrome clinique et biologique de ces accidents hémolytiques. Il faut en effet savoir les reconnaître pour mettre en route un traitement efficace ou mieux, assurer leur prévention.

Le syndrome se définit par l'apparition d'une anémie chez des hémophiles après injection de quantités importantes et répétées de plasma, de cryoprécipité ou de fractions enrichies en facteur VIII.

Dans tous les cas, il s'agit de malades de groupe sanguin A, B, ou AB, et jamais de sujets du groupe O (4, 14, 17, observations personnelles). Le système Rhésus ne paraît pas intervenir.

L'anémie est souvent intense avec chute de l'hémoglobine et de l'hématocrite pouvant faire redouter chez un hémophile traité, ou au décours d'une intervention chirurgicale, une reprise du saignement. Le

retentissement clinique est habituellement discret, avec parfois un ictère (4, 14, 17, une observation personnelle) plus rarement encore, une splénomégalie (7, 14, 17).

Le syndrome biologique est celui d'une anémie hémolytique. Il associe :

- une réticulocytose élevée signalée par la majorité des auteurs (5, 7, 13, 15, 17) et retrouvée chez 7 de nos malades;

- la bilirubine libre est élevée (7, 14, 17) dans la majorité des cas. Seeler (17) signale la possibilité d'une hémoglobinurie ;

- une micro-sphérocytose (13, 14, 17) et une augmentation de la fragilité osmotique ont été signalées par certains auteurs (14).

La nature immunologique de l'anémie hémolytique repose sur les arguments suivants :

- le test de Coombs est souvent positif au cours de l'évolution (4, 13, 14, 17). Il était positif dans cinq de nos observations personnelles. Il peut exister une augmentation du titre des anticorps anti A dans le sérum du malade (11) ou ces anticorps peuvent être élués à partir des hématies du malade (4, 11, 13, 14, 17). L'élution de l'anti A est révélée positive chez 4 de nos malades lorsque le test de Coombs était positif. Une élution positive peut également exister alors que le test de Coombs est négatif ou très faiblement positif ;

- la transfusion de globules rouges isogroupes A est inefficace chez les malades pendant la durée de l'anémie hémolytique.

Les conditions de survenue de ces accidents sont très particulières. Ils n'apparaissent en effet qu'après un apport important de plasma ou de ses dérivés dans un temps court et un rythme suffisant.

...

La majorité des auteurs insiste sur cette notion quantitative (4, 13, 14, 17). Chez nos 8 malades, l'hémolyse est apparue après injection de l'équivalent de 10 000 à 16 000 unités de facteur anti-hémophilique A pour 4 d'entre eux, et de 13 000 à 25 000 unités pour les 4 autres. Les substitutions intensives et prolongées pour un acte chirurgical en sont un exemple. La dose doit bien entendu être rapportée au poids du malade. Dans l'observation n° 1, le sujet a développé une anémie hémolytique après injection de 3 000 unités de plasma anti-hémophilique au total, lors d'un premier épisode alors que son poids était de 25 kg, alors que l'hémolyse ne s'est constituée 10 ans plus tard qu'après injection de 12 800 unités.

Les doses totales doivent être administrées dans un temps court, à raison de trois injections quotidiennes de 20 à 30 unités/kg pour chaque injection. Une dose analogue répartie sur un temps prolongé à raison, par exemple, de deux injections hebdomadaires (traitement prophylactique) dans l'observation n° 5, n'entraîne aucune modification biologique.

Le mécanisme de l'anémie hémolytique paraît bien être l'apport des anticorps naturels ou immuns anti A ou anti B contenus dans le plasma ou ses dérivés, ce qui est en bon accord avec la notion quantitative.

Le rôle de l'hyperfibrinémie pratiquement constante au cours de substitutions massives a été invoqué par certains auteurs (5, 8). Selon Edson (5), en effet, il existe une concordance entre l'anémie et l'hyperfibrinémie. En outre, la disparition de l'anémie coïncide avec le retour à la normale du fibrinogène, c'est-à-dire, en fait, avec

l'arrêt du traitement.

Ce mécanisme ne paraît plus devoir être retenu. Certes, il existe une hyperfibrinémie après apport massif de plasma et surtout de fractions coagulantes riches en fibrinogène, et celle-ci est pratiquement constante chez tous les malades étudiés. Mais l'accident hémolytique ne survient pas toujours au moment où l'hyperfibrinémie est au maximum. Et surtout, il est toujours absent chez les sujets de groupe O alors que l'hyperfibrinémie est identique (observations personnelles) ou encore chez les sujets de groupe A recevant des cryoprécipités isogroupes.

Par contre, le rôle de la teneur en agglutinines anti A ou anti B, qu'il s'agisse d'anticorps naturels ou immuns paraît évident.

Les méthodes de préparation du plasma lyophilisé, du cryoprécipité lyophilisé commercial ou des fractions coagulantes à partir de pool de sujets normaux justifie la présence de ces anticorps dans les différents produits utilisés pour le traitement de l'hémophilie A. Cette donnée par contre, n'est pas connue pour le traitement de l'hémophilie B (17). Le titre de ces anticorps, comme nous l'avons vu, est extrêmement variable d'un lot à l'autre, qu'il s'agisse de cryoprécipité ou de fractions coagulantes. Selon Rutzky et coll. (14) et Delmas-Marsalet et coll. (4), un titre d'agglutinines anti A de 1/16ème serait de peu d'importance et le risque d'accident hémolytique serait par contre certain pour un titre de 1/64ème.

Le transfert passif de ces anticorps au cours des substitutions massives se traduit par l'augmentation des anticorps anti A dans le sérum des malades (11, 13, 14, 15, 17) ou leur élution à partir des hématies (4, 11, 13, 14, 17); que le test de Coombs soit ou non positif.

...

Nous avons pu confirmer ces faits dans les quatre dernières observations étudiées (observations n° 5, 6, 7 et 8) alors que notre attention était plus particulièrement attirée vers ces faits.

Ce transfert passif paraît concerner à la fois les anticorps naturels (IgM) et les anticorps immuns (IgG). Certains auteurs cependant, soulignent tout particulièrement le rôle des anticorps immuns (4, 11, 17) qui, selon Rutzky et coll. (14) ne sont pas neutralisés par les substances de Witebsky. En fait, les recherches effectuées en collaboration avec le docteur Pillot sur les cryoprécipités lyophilisés fournis par le Centre National de Transfusion Sanguine, ont montré une grande variabilité d'un lot à l'autre, dans la présence d'anticorps naturels ou d'anticorps immuns. Cette variabilité est retrouvée dans la littérature en fonction du matériel utilisé.

Le traitement de ces accidents est double : curatif et prophylactique.

Le traitement curatif de l'anémie hémolytique secondaire à une substitution massive chez un hémophile de groupe A, B ou AB associe deux éléments :

- supprimer l'apport des agglutinines en remplaçant le plasma, les cryoprécipités lyophilisés ou les fractions coagulantes par des cryoprécipités isogroupe. Ces cryoprécipités sont actuellement préparés par les Centres de Transfusion, et conservés congelés à - 80°C ;

- réparer l'anémie si elle est profonde par transfusion de culots de globules rouges de groupe O, iso Rh. Les injections de globules rouges A ou B sont en effet toujours inefficaces. Même si une transfusion importante parvient à ramener l'hémoglobine à la normale,

...

cette correction n'est que transitoire. Plus souvent elle aggrave l'hémolyse (observations n° 2, 3 et 6).

Le traitement prophylactique de ces accidents mérite d'être mieux connu. Chaque fois que l'on envisage une substitution massive et prolongée chez des hémophiles de groupe A, B ou AB, il faut savoir réduire au maximum l'apport des agglutinines anti A ou B. Ceci peut être réalisé soit par l'utilisation de fractions ayant un titre bas en anticorps naturels ou immuns (1/16ème) selon certains auteurs (4), soit par l'apport de cryoprécipité isogroupe (13), ou mieux par l'utilisation simultanée de fractions commerciales et de cryoprécipités congelés isogroupes.

La recherche de signes précoces d'hémolyse doit être systématique. Il faudra suivre quotidiennement le taux de l'hématocrite, le chiffre de l'hémoglobine, l'existence d'une sphérocytose en relation avec l'évolution de l'état clinique du malade. Cette recherche est souvent décevante, le test de Coombs ou l'élution des hématies n'étant positifs qu'au maximum de l'accident hémolytique. Toute relation entre des réactions de type allergique au traitement substitutif (2) et les accidents hémolytiques restent difficiles à établir, de même que les relations avec l'apparition d'un anticoagulant circulant anti-Facteur VIII (17).

Bien que l'incidence clinique et biologique des accidents hémolytiques reste habituellement mineure, une meilleure connaissance du taux d'anticorps des préparations commerciales et l'utilisation des cryoprécipités isogroupes sur une large échelle permettrait de les prévenir.

...

C O N C L U S I O N S

Nous avons rapporté huit observations d'anémie hémolytique survenue chez des hémophiles de groupe sanguin A, après substitution massive par des cryoprécipités lyophilisés.

La survenue brutale d'une anémie parfois aiguë peut poser de difficiles problèmes quant à son origine et en particulier celui de l'apparition ou la reprise d'une hémorragie.

Le diagnostic d'hémolyse est évoqué sur les signes biologiques et hématologiques habituels : augmentation de la bilirubine indirecte, de la réticulocytose ; celui de son mécanisme par l'existence d'un test de Coombs direct positif avec présence d'une agglutinine anti-A sérique.

L'accident hémolytique est toujours survenu dans notre série chez des hémophiles de groupe sanguin A, après injection de quantités élevées de cryoprécipités lyophilisés en un temps réduit (de 12 000 à 26 000 unités de facteur VIII en une dizaine de jours). Deux hémophiles de groupe sanguin O, ayant reçu des quantités analogues de cryoprécipités n'ont présenté aucun accident.

L'anémie hémolytique serait due au transfert passif d'agglutinines anti-A et anti-B qui ont été recherchées et mises en évidence à des titres variables dans certaines préparations utilisées.

L'attitude thérapeutique devant ces accidents est la suivante : remplacer les cryoprécipités lyophilisés par des cryoprécipités congelés isogroupe préparés par les centres de transfusion, compenser l'anémie si nécessaire, par des culots globulaires de groupe O Rhésus négatif. La fréquence relative de l'anémie hémolytique justifie en outre l'utilisation systématique, au moins partielle, de cryoprécipités congelés isogroupes chez l'hémophile de groupe sanguin A, toutes les fois qu'il est prévu de réaliser une substitution massive (intervention chirurgicale par exemple).

...

B I B L I O G R A P H I E

-=-=-=-=-=-=-=-=-=-=-=-=-=-=-

1. Caen, J., Larrieu, M. J., Samama, M. : L'hémostase : Méthodes d'exploration et diagnostic pratique.
   Expansion Scientifique Française, Paris, 1975.
2. Clapp, R., Green, D. : Reaction to rapidly infused A.H.F. cryoprecipitate.
   New Engl. J. Med., 1969, 281, 329.
3. Darnborough, J. : The anti-A and anti-B antibody content of pooled plasma.
   J. clin. Path., 1963, 16, 74.
4. Delmas-Marsalet, Y., Parquet-Gernez, A., Bauters, F., Goudemand, M. : Anémies hémolytiques dues à la plasmathérapie chez les hémophiles.
   Rev. franç. Transf., 1969, 12, 351.
5. Edson, J. R., McArthur, J. R., Branda, R. F., McCullough, J. S., Chou, S. N. : Successful management of a subdural hematoma in a hemophiliac with an anti-factor VIII antibody.
   Blood, 1973, 41, 113.
6. Gambino, S. R. : Standard methods of clinical chemistry.
   Academic Press, New-York, 1965, 5, 55.
7. Marder, V. J., Shulman, N. R. : Major surgery in classif hemophilia using Fraction I. Experience in twelve operations and review of the literature.
   Amer. J. Med., 1966, 41, 56.

...

8. McMillan, C. W., Diamond, L. K., Srugenor, D. M. : Treatment of classical hemophilia : the use of fibrinogen rich in factor VIII for hemorrhage and for surgery.

New Engl. J. Med., 1961, 265, 224.

9. Mancini, G., Carbonaras, A. O., Heremans, J. F. : Immunochemical quantitation of antigens by single radial immunodiffusion.

Immunochemistry, 1965, 2, 235.

10. Moulinier, J. : Manuel technique d'immuno-hématologie.

Varia édit., Paris, 1970.

11. Oberman, H. A., Barnes, B. A., Ginther, P. I. : Erythrocyte sensitization and anemia due to isoantibodies in lyophilized pooled plasma.

J. Amer. Med. Ass., 1966, 198, 323.

12. Pool, J. G., Shannon, A. E. : Production of high potency concentrates of antihemophilic globulin in a closed-bag system.

New Engl. J. Med., 1965, 273, 1443.

13. Rosati, L. A., Barnes, B., Oberman, H. A. and Penner, J. A. : Hemolytic anemia due to anti-A in concentrated antihemophilic factor preparations.

Transfusion, 1970, 10, 139.

14. Rutzky, J., Cohen, F., Zuelzer, W. W. : Anti-A agglutins in pooled plasma as a cause of hemolytic anemia.

Blood, 1956, 11, 403.

15. Schorr, J. B., Ballard, S., Radel, E. : Hemolysis associated with "fibro A.H.F." therapy of hemophilia. A discussion of the mechanism and its possible prophylaxis.

Transfusion, 1966, 6, 522.

16. Schwartz, J. M., Bertram, D. C., Norton, D., Levy, T. : Appendectomy in hemophilia with the use of cryoprecipited human factor VIII to control bleeding.

J. Amer. Med. Ass., 1966, 198, 153.

17. Seeler, R. A. : Hemolysis due to anti-A and anti-B in Factor VIII preparations.

Arch. intern. Med., 1972, 130, 101.

18. Sgouris, J. T., Wickerhauser, M. : Use of frozen cryoprecipitate for the preparation of clinical factor VIII concentrate.

Transfusion, 1973, 13, 399.

19. Topley, E. : The relation of the isohemagglutinins in pooled plasma to the hemolytic anemia of Burns.

J. clin. Path., 1963, 16, 79.

Vu, le Président du Jury
D. ALAGILLE

Vu, le Doyen de la Faculté
J. P. ETIENNE

Vu, et permis d'imprimer,
le Recteur de l'Académie.

Vu, le Président du Jury

D. ALAGILLE

Vu, le Doyen de la Faculté

J. P. ETIENNE

Vu, et permis d'imprimer,

le Recteur de l'Académie.